

# Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von



herausgegeben von

**C. Neuberg**-Berlin

**Hundertsiebenundvierzigster Band**




**Berlin**
Verlag von Julius Springer
1924

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig.

# Inhaltsverzeichnis.

# Über die Lösung des Fibrins und die Hemmung der Blutgerinnung durch Nikotin.

Von

**E. Mangold** und **N. Kitamura.**

(Aus den physiologischen Instituten der Universität Freiburg i. Br. und der landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

*(Eingegangen am 3. März 1924.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

## I. Die Lösung der ultramikroskopischen Fibrinbildungen und des geronnenen Blutplasmas durch Nikotin und seine Salze.

Im Laufe der eingehenden Untersuchungen[1]) über die verschiedenen ultramikroskopischen Formen der Fibrinbildung wurde auch ihre Beeinflussung durch den Zusatz gewisser pflanzlicher Alkaloide zu dem Blute von Kaninchen und Meerschweinchen oder zu dem durch Zentrifugieren erhaltenen Plasma geprüft.

Obwohl diese Untersuchung noch nicht als abgeschlossen gelten kann und besonders eine Reihe weiterer, durch die Beobachtungen nahegelegter Versuche, auf Grund deren auch eine theoretische Deutung der Erscheinungen gegeben werden könnte, noch nicht ausgeführt wurden, sei es gestattet, da die bisherigen Versuche aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußten, schon jetzt über die beobachteten Tatsachen zu berichten.

Hierbei sei ausgegangen von der uns überraschenden Feststellung des einen von uns (*K.*), daß das in der Entstehung begriffene oder fertig gebildete filzartige Netzwerk der Fibrinnadeln im Plasma durch Zusatz von einem Tropfen Nicotin. puriss. an den Deckglasrand des Präparats sich wieder völlig auflösen kann. In gleicher Weise konnte diese Fibrinolyse auch durch Nicotin. tartaricum, hydrochlor., salicylic., die in Pulverform oder in starker Lösung an den Deckglasrand gebracht wurden, herbeigeführt werden. Der Vorgang spielt sich in der in der Abbildung wiedergegebenen Weise ab: Die Lösung schmilzt vom Deckglasrande her das Fibrinnetzwerk ab und verflüssigt die vorher geronnene Masse, dringt immer weiter in das Fibringewebe ein und löst

---

[1]) *E. Mangold*, Berl. physiol. Gesellsch, 13. Februar 1924; Klin. Wochenschrift 1924; *N. Kitamura*, Pflügers Arch. f. ges. Physiol. 1924.

dieses teils unmittelbar vom Rande des noch unzerstörten Bereichs, teils erst nach ihrem raschen, durch eine Art Imbibition erfolgenden Eindringen auf; dadurch entsteht meist eine Strömung, mit der die Flüssigkeit, die dann aus der Nikotinlösung und verflüssigtem Plasma besteht, am Rande der jeweils noch unzerstörten Partien des Fibrinnetzwerkes vorbeiströmt und eine weitere lösende Wirkung ausübt. Die Beobachtung zeigt dann deutlich (s. Abb. 1), wie sich die Nadeln des Fibringewebes (s. Abb., oberer Rand) unter der Wirkung der ein-

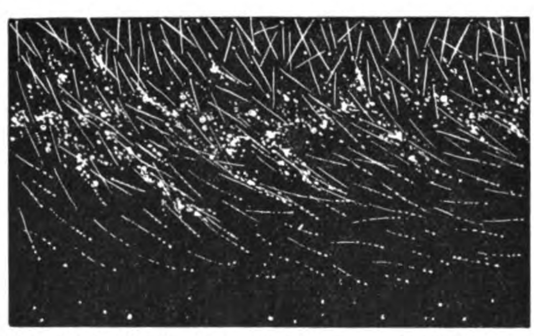


Abb. 1. Fibrinolyse durch Nikotin. Zusatz von Nicot. tartaric. 20 Proz. in 0,9 proz. NaCl-Lösung nach vollendeter Fibrinbildung. Zeiss Paraboloidkondensor. Kompens. Oc. 15 × Objektiv C.

dringenden Lösung zuerst in längliche Gebilde von granulärer Struktur umwandeln (s. Abb., Mitte), die sich dann von dem Rande des noch zusammenhaltenden Nadelfilzes ablösen und mit der Strömung (in der Abb. von links nach rechts) fortgeschwemmt werden; hierbei erfolgt dann ein völliger Zerfall in die einzelnen Körnchen, die sich auch ihrerseits noch fast alle bis zur optischen Unsichtbarkeit auflösen, so daß das Bild hiernach ganz dem des Plasmas vor der Fibrinbildung gleicht und wie bei diesem nur die verstreuten Hämokonien im Dunkelfelde sichtbar sind (s. Abb., unterer Rand).

Daß Fibrin aus dem Gelzustande wieder in Lösung gebracht werden kann, ist von *Hekma*[1]) näher beschrieben worden, der Fibrinfasermasse durch Zusatz sehr verdünnter Säure oder von n/100 NaOH in einen fortschreitenden Quellungszustand versetzen konnte, in dem die sichtbaren Fibrinteilchen über eine halbflüssige in eine flüssige Form übergehen, in der sie dann als disperse Phase einen Bestandteil des von *Hekma* angenommenen Fibrinalkalihydrosols bilden. Diese Reversibilität der Fibringerinnung erklärt sich nach *Barkan* und *Gaspar*[2]) daraus, daß Fibrin aus Oxalat- oder Fluoridplasma nur unter dem Salzeinfluß die leichte Alkalilöslichkeit annimmt, während reines Fibrin sich in gleich stark verdünnter NaOH nicht löst, aber durch Salzzusatz auch in jenem Sinne beeinflußt werden kann. Unsererseits wurde noch nicht untersucht, wieweit sich etwa

[1]) *Hekma*, diese Zeitschr. **63**, 204, 1914; **65**, 311, 1914; **73**, 370, 1916; **74**, 79, 1916.

[2]) *Barkan* und *Gaspar*, ebendaselbst **139**, 291, 1923.

rein dargestelltes Fibrin durch Nikotin oder eines seiner Salze auflösen läßt, einige vorläufige Versuche mit Carminfibrin verliefen nicht eindeutig. Während *Barkan* und *Gaspar* eine eigentliche Reversibilität der Fibringerinnung ablehnen, scheint *Hekma* doch eine solche dadurch erwiesen zu haben, daß er an künstlich gelösten Fibrinlösungen durch verschiedene Einflüsse erneute Gelbildung hervorrufen konnte[1]). Natürlich wird sonst nicht jede Auflösung von Fibrin, bei der dieses vielleicht chemisch völlig verändert wird, als Beweis einer Reversibilität herangezogen werden dürfen. Aber auch *Barrat*[2]) konnte beobachten, daß sich die anfangs entstehenden Fibrinfibrillen in konzentrierten Lösungen des Thrombingiftes von Echis carinatus, einer Viper, wieder auflösen; er betrachtet auch diese Fibrinolyse als eine Thrombinwirkung. Auch unter pathologischen Bedingungen wird Fibrinolyse nach vollendeter Gerinnung beobachtet[3]).

Es wurde nun von uns weiter geprüft, ob dem Nikotin und seinen Salzen eine ungefähr gleich starke auflösende Wirkung auf die fertigen Fibrinbildungen zukommt, und hierfür zunächst verschiedene, für Nikotin und seine Salze gleiche Konzentrationen ihrer Lösungen verglichen. Dabei erwiesen sich von den in 0,9proz. NaCl hergestellten Lösungen diejenigen von Nicotin. tartaric. am stärksten wirksam, indem sie noch bei 0,5 Proz. eine sichere und bei 0,3 Proz. eine teilweise Auflösung bedingten. Nicotin. hydrochlor. vermochte diese Wirkungen nur in Verdünnungen bis 5 bzw. 2,5 Proz. hervorzubringen, Nicotin. salicyl. und Nicotin. puriss. nur bis 10 bzw. 5 Proz.

Zum Vergleich wurden anschließend auch gleichartige Versuche mit Zusatz von verdünnter HCl und NaOH angestellt, welche zeigten, daß die Auflösung der Netzbildungen und Fibrinnadeln durch diese in ganz der gleichen Weise erfolgt. Ferner wurden auch, um der Frage näher zu treten, ob es sich beim Nikotin und seinen Salzen um eine spezifische Wirkung handle, andere Alkaloide verwendet, und einige vorläufige Versuche, mit *Atropin und Morphin* angestellt, die, in Pulverform am Deckglasrande zugesetzt, ebenfalls, jedoch in weit geringerem Maße als Nikotin eine lösende Wirkung auf die Fibringebilde erkennen ließen.

## II. Die Veränderungen der ultramikroskopischen Form und des zeitlichen Verlaufes der Fibrinbildung durch Nikotin und seine Salze.

In einer zweiten, durch die erste nahegelegten Versuchsreihe wurde Nikotin und seine Salze nicht erst während oder nach der Fibrinbildung dem Plasma, sondern schon vor dem Zentrifugieren dem Blute zugesetzt; und zwar wurden, ganz wie in den früheren Versuchen über den Einfluß verschiedener Citratkonzentrationen, das Natrium-

---

[1]) *Hekma*, diese Zeitschr. **68**, 204, 1914; **73**, 1916; **148**, 109, 1923.

[2]) *Wakelin Barrat*, The biochem. Journ. **14**, 189, 1920.

[3]) *Morawitz*, Blutgerinnung, in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden 1921, S. 196.

citrat, so jetzt jeweils von einer Lösung von Nikotin oder Nikotinsalz in 0,9proz. NaCl, je 100 cmm zu 50 cmm frisch entnommenen Blutes hinzugefügt bzw. schon vor dem Blute in das Zentrifugierröhrchen gebracht. Durch die ultramikroskopische Beobachtung eines ebenso wie sonst abpipettierten Tropfens von diesem Nikotinplasma sollte dabei geprüft werden, ob und welche Veränderungen der Fibrinbildung nach ihrer Form wie zeitlichem Verlauf, im Vergleich zu dem früher festgestellten Verhalten im Kochsalz bzw. Kochsalzcitratplasma, unter dem Einfluß des Nikotins auftreten.

Hierzu muß erwähnt werden, daß sich im Kochsalz- bzw. Kochsalzcitratplasma von Kaninchen und Meerschweinchen folgende typische Formen der Fibrinbildung hatten feststellen lassen[1]):

Erste Form: Agglutinationen von Hämokonien als Gerinnungszentren, Bildung der Fibrinnadeln, Verzweigung, Netzbildung. Zweite Form: Diffuse einzelne Nadelbildung ohne Agglutination und Zentren, dann Verzweigung, Netzbildung. Dritte Form: Fibrinbildung zugleich nach der ersten und zweiten Form. Vierte Form: Diffuse einzelne Nadelbildung, Wachstumshemmung der Nadeln durch rasche diffuse Gelbildung (optisch milchige Trübung). Fünfte Form: Unvollkommene Fibrinbildung mit Flüssigbleiben des Plasmas, doch ultramikroskopisch nachweisbaren Anfängen von Agglutination der Hämokonien und Bildung sehr kleiner Nadeln. Sechste Form: Allgemeine Gelbildung ohne Agglutination und Fibrinnadeln.

*Tabelle I.* Verschiedene Formen und zeitlicher Beginn der Fibrinbildung unter dem Einflusse von Nikotin.

| Nikotin in 0,9proz. NaCl-Lösung | 0,05 Proz. | | 0,1 Proz. | | 0,5 Proz. | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | K | M | K | M | K | M |
| N. tartaric. | I 8 | — | I 8 | — | VI 20 | — |
| N. hydrochlor. | — | II 10 | — | (II) IV 8 | — | VI 8 |
| N. salicylic. | — | — | — | — | I 13 | — |
| N. puriss. | I 8 | — | I 10 | — | VI 22 | — |

| Nikotin in 0,9proz. NaCl-Lösung | 1 Proz. | | 2 Proz. | 3 Proz. | 4 Proz. |
|---|---|---|---|---|---|
| | K | M | K | K | K |
| N. tartaric. | VI 19 | VI 13 | — | — | — |
| N. hydrochlor. | VI 8 | VI 9 | — | — | — |
| N. salicylic. | I 16 | — | IV 13 | IV 15 | (VI 30) |
| N. puriss. | VI 19 | — | — | — | — |

Zur Anwendung kamen die aus Tabelle I ersichtlichen, verschieden konzentrierten Lösungen, deren Wirkung teils am Blute von Kaninchen (K), teils dem von Meerschweinchen (M) beobachtet wurde. Für jede

[1]) s. *Mangold,* l. c. und *Kitamura,* l. c.

der geprüften Nikotinsubstanzen ergab sich dabei eine durchaus regelmäßige Beeinflussung der Fibrinbildung, die in der Tabelle durch die Nummer der Gerinnungsform (römische Ziffer) angegeben ist, je nach der Übereinstimmung mit einer der oben aufgezählten verschiedenen Formen der Fibrinbildung.

Zugleich ist in der Tabelle jedesmal der aus den gleichartigen Versuchen berechnete Durchschnittswert für die beobachtete Gerinnungszeit („Reaktionszeit" nach *Wöhlisch*), d. h. für die Zeit von der Blutentnahme bis zum ersten Auftreten der ultramikroskopisch sichtbaren Fibrinausscheidung (Nadelbildung oder Gelbildung als milchige Trübung) eingetragen (Minuten in arabischen Ziffern), um die zeitliche Veränderung der Fibrinbildung gegenüber der Norm beurteilen zu können. Als Normalwerte können wohl die für das Plasma des nur mit 0,9proz. NaCl-Lösung (100 cmm zu 50 cmm Blut) ohne sonstigen Zusatz versetzten Blutes zum Vergleich herangezogen werden. Diese hatten ja bei Kaninchen wie Meerschweinchen eine deutliche gegenseitige Abhängigkeit von der Form der Fibrinbildung gezeigt; sie betrugen beim Kaninchen für die erste Form 9 Minuten, beim Meerschweinchen für die zweite Form 11 Minuten, für die vierte Form 8 Minuten (s. die Arbeit von *Kitamura*, Tabelle I). Für die vierte Form beim Kaninchen, die wir in unserer Tabelle vorfinden, fehlt ein normaler Vergleichswert, da früher beim Kaninchen diese Form niemals beobachtet wurde, sie hier aber neu hinzutritt. Ebenso tritt unter der Nikotinwirkung hier als neu die sechste Form hinzu, die im Kochsalz- oder Kochsalzcitratplasma niemals beobachtet worden war.

Die Tabelle zeigt nun, daß die Konzentrationen 0,05 und 0,1 Proz. von Nikotin oder seinen Salzen (in 0,9proz. NaCl-Lösung, je 100 cmm zu 50 cmm Blut zugesetzt) die Fibrinbildung im Kaninchen- und Meerschweinchenplasma weder der Form nach noch zeitlich verändern; beim Kaninchen tritt wieder die erste Form, beim Meerschweinchen die zweite oder vierte Form auf und stets in der normalen, d. h. in der gleichen Zeit wie im Plasma nach alleinigem Zusatz von NaCl zum Blute.

Bei 0,5 und 1 Proz. Nicotin. puriss. oder tartar. oder hydrochlor. sehen wir aber keine Agglutination oder Nadelbildung mehr auftreten, die Fibrinausscheidung zeigt sich hier vielmehr lediglich in einer optisch als milchige Trübung des Plasmatropfens erkennbaren Gelbildung (sechste Form). Das Auftreten dieser Art der Gerinnung erweist sich zugleich, beim Kaninchen wenigstens, sehr erheblich verzögert und entspricht zeitlich etwa dem Beginn der Fibrinbildung bei der ersten oder dritten Form nach Zusatz von 0,1 bis 0,15 Proz. Natriumcitrat (vgl. Tabelle I der Arbeit *Kitamuras*).

Auch hier zeigt sich aber wieder deutlich eine gegenseitige Abhängigkeit von Gerinnungszeit und Form der Fibrinbildung. Während

die allgemeine Gelbildung aber bei der vierten Form im Kochsalz blutplasma des Meerschweinchens sich durch eine Beschleunigung der Gerinnungszeit auszeichnete und Bildung und Wachstum der Nadeln hemmte, unterbleibt hier bei der sechsten Form, die wir als Folge der Nikotinwirkung beobachten, die Nadelbildung völlig.

Bei höheren Konzentrationen wurden nur mit Nicotin. salicyl. Versuche angestellt, das in 0,5 und 1 Proz. beim Kaninchen keine Änderung der Form, wohl aber bereits deutlich eine Verzögerung der Gerinnungszeit herbeiführt (s. Tabelle), und bei 2 und 3 Proz. nun auch beim Kaninchenplasma die im Kochsalz- oder Kochsalzcitratplasma des Kaninchens niemals beobachtete vierte Form der Fibrinbildung hervorruft, hier aber zugleich mit der schon bei 0,5 und 1 Proz. festgestellten Verzögerung. Das Nicotin. salicyl. beeinflußt hiernach einmal erst in höheren Konzentrationen die Form der Fibrinbildung als die anderen Nikotinsubstanzen, es vermag aber dann im Kaninchenplasma eine Form derselben hervorzurufen, die sonst in diesem noch nicht beobachtet wurde, während sie beim Meerschweinchen auch im Kochsalzblutplasma häufig auftritt.

Unter dem Einfluß von 4 Proz. Nicotin. salicyl. wurde auch in einigen Fällen wieder das Auftreten der sechsten Form mit noch stärkerer Verzögerung der Gerinnung festgestellt; in anderen blieb diese jedoch völlig aus und das Plasma flüssig. Obwohl es noch nicht näher geprüft wurde, ist hiernach anzunehmen, daß auch die anderen Nikotinsubstanzen in höherer als der bisher von uns verwendeten Konzentration die Fibrinbildung völlig unterdrücken.

Nach den bisher vorliegenden und hier wiedergegebenen Versuchen ist anzunehmen, daß Nikotin und seine Salze und in ähnlicher Weise anscheinend noch andere Alkaloide, eine spezifische Beeinflussung des zeitlichen Verlaufs und der Form der Fibrinbildung bei der Blutgerinnung ausüben, sowie Fibrinolyse herbeizuführen vermögen.

## Zusammenfassung.

Zusatz von Nicotin. puriss., oder von Nicotin. tartaric., hydrochlor., salicylic. in Pulverform oder starker Lösung (in 0,9proz. NaCl) zum ultramikroskopischen Präparat vom Plasma aus zentrifugiertem Blute von Kaninchen und Meerschweinchen nach fertiger Bildung des Fibrinnetzwerkes, bewirkt Fibrinolyse. Zusatz vor dem Zentrifugieren bedingt in höheren Konzentrationen Verlangsamung bis Verhinderung der Gerinnung sowie Veränderung der typischen Formen der Fibrinbildung, so daß diese z. B. auch im Kaninchenplasma in einer sonst nur im Meerschweinchenplasma zu beobachtenden Form erfolgt, oder in beiden als diffuse Gelbildung ohne Fibrinnadeln. Am stärksten wirken Nicotin. puriss. und tartaric., am schwächsten Nicotin. salicylic.

# Die $p_H$-Messung mit einfarbigen Indikatoren in alkoholischen Lösungen.

Von

**Leonor Michaelis und Michiharu Mizutani.**

(Aus dem biochemischen Institut der Aichi-Medizinischen Universität zu Nagoya, Japan.)

*(Eingegangen am 8. Januar 1924.)*

Mit 2 Abbildungen im Text.

## 1. Die Stellung des Problems.

Alle Methoden zur Messung von $p_H$ mit Indikatoren sind bisher nur für wässerige Lösungen ausgearbeitet worden. Es ist selbstverständlich, daß diese Methoden nicht ohne weiteres für alkoholische Lösungen angewendet werden können. Das Bedürfnis, auch in wässerig-alkoholischen Lösungen mit Indikatoren $p_H$ zu messen, hat sich im Verlauf unserer Arbeiten so gesteigert, daß wir uns genötigt sahen, zunächst diese Lücke auszufüllen, bevor die beabsichtigten Probleme in Angriff genommen werden konnten. Auch in der chemisch-analytischen Praxis wird die acidimetrische Titration mit Indikatoren in wässerig-alkoholischen Lösungen häufig ausgeführt, ohne daß eine rationelle Begründung für die empirisch gefundenen Methoden vorliegt. So wird z. B. die Titration von Fettsäuren in alkoholischen Lösungen unter Anwendung von Phenolphthalein schon seit langem geübt, und durch die neuerdings von *Willstätter* gefundene Tatsache, daß man Aminosäuren in alkoholischen Lösungen mit Phenolphthalein so titrieren kann, als ob sie einfache Carbonsäuren wären, ist das Interesse für das Verhalten der Indikatoren in alkoholischen Lösungen aufs neue wachgerufen worden, und es ist nicht zu bezweifeln, daß eine systematische Untersuchung dieser Verhältnisse manche neue analytische Anwendung ermöglichen wird. Bei dieser Frage handelt es sich erstens um die Veränderungen, welche der Indikator durch den Alkohol erfährt, zweitens um die Veränderung, welche der zu titrierende Stoff, also die Fettsäure oder die Aminosäure, durch den Alkohol erfährt. In dieser Arbeit beschäftigten wir uns zunächst nur mit dem Einfluß des Alkohols auf den Indikator, während wir in einer bald

folgenden Mitteilung den Einfluß des Alkohols auf die Eigenschaften der Säuren und Basen im allgemeinen behandeln werden.

In der Literatur liegen Angaben über den Einfluß des Alkohols auf die Empfindlichkeit der Indikatoren vor, so Arbeiten von *A. Thiel*[1]), *Scholz*[2]), *Cohn*[3]), *Goldschmidt*[4]), *R. Meyer* und *O. Spengler*[5]), *O. Schmattolla*[6]), *R. Hildebrand*[7]). Zum großen Teil behandeln diese Arbeiten die Beobachtung, daß die rote Farbe von Phenolphthalein durch Äthyl- oder Methylalkohol heller wird. Am wichtigsten erscheint die Arbeit von *E. R. Bischop*, *E. B. Kitt* und *J. H. Hildebrand*[8]). Sie bestimmten die Neutralisationskurve von verschiedenen Säuren und Basen in alkoholischen Lösungen und beobachteten die elektromotorischen Kräfte, innerhalb deren die verschiedenen Indikatoren ihr Umschlagsgebiet haben. Neuerdings hat *Kolthoff*[9]) eine ausgedehnte Untersuchung über den Einfluß des Alkohols auf die Empfindlichkeit einiger Indikatoren ausgeführt. Fast alle diese Arbeiten erstrecken sich im wesentlichen auf die Frage, in welcher Weise der „Umschlagspunkt" der Indikatoren durch den Alkohol verändert wird, und sie behandeln daher nur einen Teil des von uns aufgeworfenen Problems, vor allem aber gibt keine dieser Arbeiten die Möglichkeit, eine $p_H$-Bestimmung mit Indikatoren auszuführen. *Kolthoff* ist zu einigen Gesetzmäßigkeiten gelangt, welche etwa folgendermaßen zusammengefaßt werden können: saure Indikatoren werden durch Alkohol empfindlicher für H-Ionen, basische Indikatoren werden durch Alkohol empfindlicher für OH-Ionen. Wir machten es uns zur Aufgabe, diese Verhältnisse quantitativ zu untersuchen.

Von den Indikatoren wählten wir diejenigen aus, welche sich für die Indikatorenmethode ohne Puffer eignen. Denn eine Indikatorenmethode *mit* Vergleichspufferlösungen würde in alkoholischen Lösungen allzu umständlich sein. Es müßten für diesen Zweck die $p_H$-Eichungen, welche von *Sörensen* und anderen für die wässerigen Pufferlösungen gemacht worden sind, in derselben Weise für wässerig-alkoholische Puffergemische mit variiertem Alkoholgehalt ausgeführt werden. Das wäre nicht nur sehr mühsam, sondern auch bei höherem Alkoholgehalt gar nicht leicht zu verwirklichen, weil die wichtigsten der Puffergrundsubstanzen, z. B. die Phosphate, in Alkohol schwer löslich sind. Alle sich hieraus ergebenden Schwierigkeiten können wir umgehen, wenn wir die *Indikatorenmethode ohne Puffer* benutzen. Für die meisten

---

[1]) Stuttgart **28**, 30, 1911.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **14**, 348, 1904.

[3]) Zeitschr. f. angew. Chem. **19**, 1389, 1906.

[4]) Chemiker-Ztg. **28**, 302, 1904.

[5]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **36**, 2951, 1903.

[6]) Ebendaselbst **35**, 2874, 1902.

[7]) Journ. of the Americ. chem. soc. **30**, 1914, 1908; Zeitschr. f. Elektrochem. **14**, 352, 1908.

[8]) Journ. of the Americ. chem. soc. **44**, 135, 1922; zitiert nach *Kolthoff*, l. c., die Originalarbeit war uns bis zum Abschluß dieses Manuskriptes leider nicht erreichbar.

[9]) Rec. Trav. Chim. **42**, 251, 1923.

Indikatoren ist es dann nur nötig, die Dissoziationskonstante für verschiedenen Alkoholgehalt festzustellen. Der einzige Indikator, der einer mehr empirischen Eichung bedarf, weil er nicht dem einfachen Massenwirkungsgesetz gehorcht, ist das Phenolphthalein, welches deshalb eine ausgedehnte eigene Untersuchung erforderte. Mit der Reihe der Nitrophenol-Indikatoren, ergänzt durch das Phenolphthalein, glauben wir uns für praktische Zwecke begnügen zu dürfen.

### 2. Definition des $p_H$ in alkoholischer Lösung.

Infolge der Ionenaktivitätstheorie von *Bjerrum* sind wir zu der Erkenntnis gekommen, daß wir mit Hilfe der potentiometrischen Methode im allgemeinen nicht die wahre Konzentration der H-Ionen bestimmen können, sondern nur eine fiktive Größe, die „H-Ionenaktivität". Nur in äußerst verdünnten und äußerst elektrolytarmen wässerigen Lösungen ist dieselbe der wahren Konzentration gleich. Diese Aktivität der H-Ionen ist in wässeriger Lösung bei gegebener Temperatur in eindeutiger Weise von dem Potentialunterschied der Lösung gegen eine Wasserstoffelektrode abhängig, nämlich in der Weise, daß der Logarithmus der H-Ionenaktivität diesem Potential proportional ist.

Wir denken uns eine Konzentrationskette mit zwei H-Elektroden, die eine Flüssigkeit habe ein bekanntes $p_H = q$, der Potentialunterschied beider Elektroden sei $E$, dann ist in der unbekannten Lösung

$$p_H = q + \frac{E}{0{,}0002\,T},$$

wo $T$ die absolute Temperatur ist. Es muß also eine Lösung mit bekanntem $p_H$ gegeben sein. Um eine solche herzustellen, machen wir von der Erkenntnis Gebrauch, daß in sehr verdünnten wässerigen HCl-Lösungen die Aktivität der H-Ionen praktisch gleich ihrer wahren Konzentration ist. So können wir z. B. mit einer für praktische Messungen genügenden Genauigkeit annehmen, daß in einer n/1000 wässerigen HCl-Lösung $p_H = 3{,}00$ ist, und dann wäre die Definition für $p_H$ in einer beliebigen wässerigen Lösung

$$p_H = 3{,}00 + \frac{E}{0{,}0002\,T}, \qquad (1)$$

wo $E$ die elektromotorische Kraft einer Konzentrationskette zwischen der unbekannten Lösung und n/1000 HCl-Lösung ist. In der Praxis benutzen wir statt der leicht verderblichen n/1000 HCl-Lösung lieber die Standardacetatlösung, deren $p_H$ nach Maßgabe der potentiometrischen Vergleichung mit n/1000 HCl-Lösung = 4,61[1]) zu setzen

[1]) *Michaelis* und *Krüger*, diese Zeitschr. **119**, 307, 1921.

ist. Ist also $E'$ der Potentialunterschied der unbekannten Lösung gegen wässeriges Standardacetat, so ist gemäß dieser Definition das $p_H$ der unbekannten Lösung

$$p_H = 4{,}61 + \frac{E'}{0{,}0002\,T}. \tag{1a}$$

Solange es sich um rein wässerige Lösungen handelt, ist die soeben gegebene Definition von $p_H$ eindeutig. In wässerig-alkoholischen Lösungen entsteht aber eine Schwierigkeit. Gehen wir wieder von einer Konzentrationskette aus, welche aus einer Lösung mit *bekanntem* $p_H$ und zweitens aus der unbekannten Lösung besteht. *Welche* Lösung mit *bekanntem* $p_H$ darf man nun hier zur Benutzung empfehlen? Entweder man nimmt wieder eine rein *wässerige*, sehr verdünnte HCl-Lösung, oder man nimmt eine sehr verdünnte HCl-Lösung von gleichem *Alkoholgehalt* wie die zu untersuchende Lösung. Es ist nicht unbedingt notwendig, daß diese beiden Methoden zu dem gleichen Resultat führen; das ist nur dann der Fall, wenn zwischen einer sehr verdünnten wässerigen HCl-Lösung und einer alkoholisch-wässerigen HCl-Lösung gleicher HCl-Konzentration kein Potentialunterschied besteht. Das kann man nicht ohne weiteres vorhersagen. Wir wollen nun die *Festsetzung* treffen, daß wir das $p_H$ immer nach dem Potentialunterschied gegen eine sehr verdünnte, bekannte *wässerige* HCl-Lösung nach der Formel (1) bzw. (1a) berechnen. Wir werden allerdings sehen, daß das bei wässerig-alkoholischen Lösungen wahrscheinlich belanglos ist. Aber immerhin soll die Definition des $p_H$ für beliebige, nicht rein wässerige Lösungen so gestellt werden, daß sie auch für andere Lösungsmittel als Äthylalkohol unter allen Umständen eindeutig bleibt. Diese Definition läßt sich auch folgendermaßen aussprechen: das $p_H$ einer beliebigen *nicht-wässerigen* Lösung soll gleich gesetzt werden dem $p_H$ einer derartigen *wässerigen* Lösung, welche, mit der nicht wässerigen Lösung zu einer Konzentrationskette vereinigt, keinen Potentialunterschied[1]) gegen sie hat. Hierbei wird Gleichheit des $H_2$-Partialdruckes in beiden Elektrodenräumen vorausgesetzt. Daraus folgt folgende Methode zur $p_H$-Messung in einer Lösung von ganz beliebigem Lösungsmittel: man mißt in einer $H^{\cdot}$-Konzentrationskette das Elektrodenpotential $E$ dieser Lösung gegen eine rein wässerige Lösung von *bekanntem* $p_H$ $(= q)$, und setzt

$$p_H = q + \frac{E}{0{,}0002\,T}.$$

[1]) Genauer gesagt: keinen *Elektroden*-Potentialunterschied; das *Diffusions*potential der Kette muß rechnerisch oder experimentell eliminiert sein; sollte die nicht-wässerige Lösung mit Wasser unmischbar sein, so muß auch das Phasengrenzpotential abgezogen werden — eine allerdings bis heute im allgemeinen schwer lösbare Aufgabe.

Ist also die rein wässerige Lösung stets Standardacetat, so ist z. B. für 18° C

$$p_H = 4{,}61 + \frac{E}{0{,}0577}.$$

Die „Aktivität" der H-Ionen selbst, $a_H$, hängt dann mit diesem $p$ in der Weise:

$$a_H = 10^{-p_H}$$

zusammen. Diese Definition hat wiederum einen bestimmenden Einfluß auf die Definition der Dissoziationskonstanten der Säuren und Basen in nicht-wässerigen Lösungen.

Bei der Ausarbeitung der Indikatorenmethode ohne Puffer für nicht-wässerige Lösungen handelt es sich nämlich im wesentlichen um die Bestimmung der Indikatorendissoziationskonstanten in wässerig-alkoholischen Lösungen. Alles übrige folgt aus der Anwendung des Massenwirkungsgesetzes. Wir müssen also die Definition der Dissoziationskonstante eines Indikators oder, allgemein gesprochen, einer Säure oder Base in nicht-wässeriger Lösung derart treffen, daß sie in Übereinstimmung mit unserer Definition des $p_H$ steht, d. h. daß sich aus dieser Definition kein Widerspruch zum Massenwirkungsgesetz ergibt, wenn wir gleichzeitig als aktive Massen der H-Ionen die oben definierte Größe einsetzen. Die naturgemäße Definition der Dissoziationskonstante einer schwachen Säure in einem beliebigen Lösungsmittel ist

$$k = \frac{a_{H^\cdot} \cdot a_{A'}}{a_S},$$

$a$ bedeutet die Aktivität der indizierten Molekülart in dem betreffenden Lösungsmittel; $A'$ ist das Anion der Säure, $S$ die undissoziierte Säure. Die Definition der Aktivitäten ist gegeben durch die Gleichungen

$$a_{H^\cdot} = c_{H^\cdot} \cdot f_{H^\cdot},$$
$$a_{A'} = c_{A'} \cdot f_{A'},$$
$$a_S = c_S \cdot f_S,$$

wo $c$ die wahre Konzentration, $f$ der Aktivitätsfaktor ist. Von dem letzteren nehmen wir an, daß er für jede Molekül- und Ionenart von der Natur des Lösungsmittels abhängig ist. Also ist

$$k = a_{H^\cdot} \cdot \frac{c_{A'} \cdot f_{A'}}{c_S \cdot f_S},$$

$$k' = \frac{k \cdot f_S}{f_{A'}} = a_{H^\cdot} \cdot \frac{c_{A'}}{c_S}.$$

Nun ist die gesamte Konzentration der Säure $C$

$$C = c_{A'} + c_S,$$

also

$$k' = \frac{a_{H^\cdot} \cdot c_{A'}}{C - c_{A'}} = a_{H^\cdot} \cdot \frac{\frac{c_{A'}}{C}}{1 - \frac{c_{A'}}{C}},$$

$k' = k \cdot \frac{f_S}{f_{A'}}$ kann man die „auf das betreffende Lösungsmittel reduzierte Dissoziationskonstante" nennen. Diese reduzierte Konstante genügt für praktische Zwecke, die Größen $f_S$ und $f_{A'}$ bleiben unbekannt; es wird nur angenommen, daß dieselben für ein gegebenes Lösungsmittel konstant sind.

Nun ist $c_{A'}/C$ die früher als *Farbgrad F* definierte Größe. Denn die relative Farbtiefe ist bei gegebenem Lösungsmittel proportional der *Konzentration*, nicht der Aktivität, der gefärbten Ionenart. Dies geht daraus hervor, daß nach *Michaelis* und *Krüger* (l. c.) die maximale Farbtiefe (bei genügender Alkalität) in weitem Maße unabhängig ist von der Gegenwart von Neutralsalzen, obwohl doch durch die Neutralsalze der Aktivitätsfaktor der Ionen des Indikators zweifellos verändert wird. Folglich ist

$$k' = a_{H^\cdot} \cdot \frac{F}{1 - F}. \tag{2}$$

Hier ist $k'$ die „auf das betreffende Lösungsmittel *reduzierte* Dissoziationskonstante". Die einzelnen Größen der rechten Seite können leicht bestimmt werden, $a_{H^\cdot}$ durch potentiometrische Messung, und der Farbgrad $F$ ist das Verhältnis der Farbtiefe des Indikators in der betreffenden Lösung zu seiner maximalen Farbtiefe in gleicher Konzentration bei genügend großer Alkalität in einem Lösungsmittel des gleichen Alkoholgehaltes.

### 8. Der Potentialunterschied verdünnter wässerig-alkholischer HCl-Lösungen gegen die Wasserstoffelektrode.

Wir haben vorher auseinandergesetzt, daß man das $p_H$ einer nichtwässerigen Lösung auf zwei Weisen definieren könnte und haben uns zu einer derselben entschlossen. Es entsteht nun die Frage, ob die andere Definition auch zu anderen $p_H$-Werten führen würde. Da diese Frage von allgemeiner Wichtigkeit für den Begriff der Aktivität und des $p_H$ ist, versuchten wir sie experimentell zu beantworten, und zwar folgenderweise. Es wurde das Wasserstoffpotential von HCl-Lösungen verschiedener Konzentration teils in Wasser, teils in Wasser-Alkohol-

gemischen gemessen. Beginnen wir mit den wässerigen Lösungen, so handelt es sich nur um eine kurze Wiederholung der Messung der früheren Arbeiten[1]). Es liegt der Gedanke zugrunde, daß wir in einer n/1000 HCl-Lösung ohne praktischen Fehler die Konzentration der H-Ionen gleich ihrer Aktivität setzen können, daß also $p_H = 3{,}00$ ist. Wenn wir nun, hiervon ausgehend, potentiometrisch das $p_H$ in n/100 HCl bestimmen, so finden wir es praktisch genau = 2,00. Daraus erkennen wir, daß auch in n/100 HCl-Lösungen die Aktivität noch praktisch gleich der Konzentration ist. Weiter finden wir für das $p_H$ in n/10 HCl-Lösungen 1,03, während wir 1,00 erwarten müßten, wenn auch hier noch die Aktivität praktisch gleich der Konzentration gewesen wäre. In wässerigen Lösungen macht sich also der Einfluß der elektrostatischen Wirkung der Ionen aufeinander *bei reinen HCl-Lösungen* praktisch erst in größeren Konzentrationen als n/100 geltend. In alkoholischen Lösungen, welche eine kleinere Dielektrizitätskonstante als Wasser haben, dürfen wir erwarten, daß der elektrostatische Einfluß der Ionen auf die Aktivität schon in geringeren Konzentrationen bemerkbar wird. Betrachten wir z. B. einige von uns zur Orientierung angestellte Versuche mit 30proz. Alkohol, so sehen wir, daß die HCl-Lösungen ein etwas größeres Potential haben als in Wasser. Berechnen wir aus diesem Potential das $p_H$ so, als ob es sich um eine wässerige Lösung handelte, so erhalten wir 2,96 (gegen 3,00 in reinem Wasser) bzw. 2,08 (gegen 2,00) bzw. 1,17 (gegen 1,03). Zu diesen Zahlen ist nun zunächst zu bemerken, daß sie sämtlich mit einem kleinen, aber schwer abschätzbaren Fehler behaftet sind, welcher darauf beruht, daß man das Diffusionspotential nicht leicht vernichten kann. Wir wendeten überall die kürzlich von *Michaelis* und *Fujita*[2]) beschriebene Methode an, daß wir die HCl-Lösung in ihrem letzten Abschnitt mit KCl sättigten und mit gesättigter KCl-Lösung (in Agar) in Berührung brachten. Nun ist aber in Alkohol eine gesättigte KCl-Lösung so dünn, daß der Effekt dieser Methode fast verloren geht. Es bleibt daher beinahe dasselbe Diffusionspotential bestehen, welches bei direkter Berührung der alkoholischen HCl-Lösung mit gesättigter wässeriger KCl-Lösung entsteht. Dadurch erscheint das $p_H$ etwas zu klein, und zwar um so mehr, je stärker die Konzentration des Alkohols und des HCl ist. Immerhin aber, wenn man eine Überschlagskorrektur nach dieser Richtung ausführt, bleiben wohl immer noch kleine Unterschiede in dem $p_H$ der wässerigen und alkoholischen HCl bestehen. Vor allem aber beträgt der $p_H$-Unterschied zwischen n/100 und n/1000 HCl in den alkoholischen Lösungen wohl auch *nach* dieser Korrektur immer

[1]) *L. Michaelis* und *Kakinuma*, diese Zeitschr. **141**, 394, 1923.

[2]) *Michaelis* und *Fujita*, ebendaselbst **142**, 398, 1923.

weniger als 1,0. Daraus dürfen wir schließen, daß für alkoholische Lösungen selbst eine n/1000 HCl-Lösung noch nicht eine so hohe Verdünnung darstellt, daß wir die Aktivität gleich der Konzentration setzen dürfen. Noch dünnere HCl-Lösungen kann man wegen ihrer schlechten Leitfähigkeit nicht genau genug messen. Wir können also nur folgendes aussagen: das $p_H$ in einer alkoholischen HCl-Lösung von genügender Verdünnung, so berechnet, als ob es sich um eine wässerige Lösung handelte, unterscheidet sich nur sehr wenig von dem einer wässerigen HCl-Lösung gleicher Konzentration. Es ist daher wahrscheinlich oder wenigstens sehr möglich, daß in einer noch stärker verdünnten HCl-Lösung (etwa $10^{-5}$ n) der $p_H$-Unterschied zwischen einer wässerigen und alkoholischen Lösung fast völlig, vielleicht sogar vollkommen verschwindet. Hieraus ergibt sich folgendes: Nur wenn wir das $p_H$ in einer alkoholischen Lösung auf die vorhin festgesetzte Weise definieren, bekommen wir exakte Zahlen. Wenn wir das $p_H$ auf die andere der beiden möglichen Weisen definieren wollten, würden wir erstens vorläufig niemals experimentell in der Lage sein, es exakt zu bestimmen, und zweitens ist es einigermaßen wahrscheinlich, daß sich dann fast genau oder vielleicht sogar ganz genau derselbe Wert ergibt wie in dem anderen Falle. Aber dies ist eben nicht ganz sicher. Dies wird genügen, um unsere obige Definition des $p_H$ in alkoholischer Lösung zu rechtfertigen; sie allein ist bisher praktisch sicher brauchbar.

### 4. Die Eichung der Indikatorenkonstanten in wässerig-alkoholischen Lösungen für die Indikatoren der Nitrophenolreihe.

Nunmehr sind wir in den Stand gesetzt, die auf verschiedene Alkohol-Wassergemische reduzierten Dissoziationskonstanten der einfarbigen Indikatoren zu ermitteln nach derselben Methode, wie es in der Arbeit von *Michaelis* und *Gyemant*[1]) entwickelt worden ist. Die für das jeweilige Lösungsmittel gültige Dissoziationskonstante $k$ des Indikators ist

$$k = h \cdot \frac{F}{1 - F}. \qquad (3)$$

Hier bedeutet $h$ die Wasserstoffzahl (die Aktivität der H-Ionen), $F$ ist der Farbgrad. Dieser wird experimentell ermittelt, indem man feststellt, welchen Bruchteil des Indikators in einer natronlaugehaltigen Lösung man braucht, um dieselbe Farbtiefe zu erzeugen wie in der mit einer passenden Indikatormenge versetzten Lösung von bekannter Wasserstoffzahl in dem gleichen Lösungsmittel. Die beiden miteinander zu vergleichenden Lösungen müssen stets den gleichen Alkoholgehalt und das gleiche Gesamtvolumen haben, außerdem muß das Volumen

[1]) Diese Zeitschr. **109**, 166, 1920.

der zugesetzten Indikatorlösung so gering sein, daß dadurch der Alkoholgehalt des gesamten Gemisches nicht merklich geändert wird. Führen wir diese Rechnung an einem Beispiel durch. Von einer Lösung, welche n/100 an Essigsäure, n/100 an Natriumacetat war und 50 Vol.-Proz. Alkohol enthielt, wurden 10 ccm mit 0,3 ccm einer Lösung von $\gamma$-Dinitrophenol versetzt. Ferner wurde eine etwa n/100 Natronlauge, gelöst in 50 Vol.-Proz. alkoholhaltigem Wasser, mit demselben Indikator versetzt. Durch einen Reihenversuch wurde gefunden, daß 0,153 ccm der Indikatorlösung in der Laugenlösung dieselbe Farbtiefe erzeugen wie in dem Acetatgemisch. Folglich ist der Farbgrad $F$ des Acetatgemisches 0,153 : 0,300 = 0,510. Aus der obigen Formel (3) ergibt sich durch Logarithmieren

$$\log k = \log h - \log (1 - F) + \log F,$$

$$p_k = p_H + \log (1 - F) - \log F.$$

Das $p_H$ unseres Acetatgemisches ist, elektrometrisch gemessen, = 5,62, also ergibt sich $p_k$ = 5,64. In wässeriger Lösung wurde $p_k$ für $\gamma$-Dinitrophenol von *Michaelis* und *Krüger*[1]) = 5,15 gefunden. Wenn wir nun die Festsetzung von *Ostwald*, daß die „Stärke" einer Säure nach ihrer Dissoziationskonstante bemessen werden soll, dahin erweitern, daß die Stärke einer Säure in einem *beliebigen* Lösungsmittel nach der auf dieses Lösungsmittel reduzierten Dissoziationskonstante bemessen werden soll, so müssen wir sagen, daß die Säurestärke des Indikators durch den Alkoholzusatz vermindert wird.

Nach diesem Prinzip werden nun die Indikatorkonstanten für einige wichtige einfarbige Indikatoren bestimmt. Da die Indikatoren der Nitrophenolreihe streng dem Massenwirkungsgesetz folgen, ist es für die Anwendung der Indikatorenmethode ohne Puffer nur erforderlich, in derselben Weise, wie es früher für wässerige Lösungen ausgeführt wurde, in alkoholischen Lösungen die reduzierte Dissoziationskonstante zu bestimmen.

Der benutzte Alkohol war ein wasserfreies Präparat des Handels, welches nach Maßgabe der Dichte einen Alkoholgehalt von mehr als 99,8 Proz. hatte und vor dem Versuche noch einmal überdestilliert wurde. Da die Änderungen der Resultate durch *kleine* Änderungen des Alkoholgehaltes sehr unbedeutend sind, haben wir den benutzten Alkohol einfach als 100 proz. betrachtet und die Verdünnung danach angegeben.

Streng genommen, müssen alle Potentialmessungen reduziert werden auf Gleichheit des Wasserstoffpartialdruckes in beiden Elektrodenräumen, es müßte also eine Korrektur wegen des Dampfdruckes

---

[1]) Diese Zeitschr. **109**, 166, 1920.

des Alkohols eingeführt werden. In unseren späteren, in der Einleitung angekündigten Arbeiten werden wir diese Korrekturen stets berücksichtigen. Für die Zwecke der vorliegenden Arbeit haben wir jedoch von ihnen abgesehen. Bei mittleren Alkoholgehalten übersteigt diese Korrektur kaum 0,5 Millivolt, und bei den höchsten in dieser Arbeit verwendeten Alkoholkonzentrationen übersteigt sie kaum 1,0 Millivolt. In Anbetracht der zu erwartenden Genauigkeit schien es uns nicht erforderlich, diese Korrekturen hier einzuführen. Nur bei den im dritten Abschnitt genannten Zahlen sind sie berücksichtigt.

Die Bezeichnung der Puffermischungen ist nach der *Sörensen*schen Benennungsweise geschehen; z. B. bedeutet Borat-HCl-Gemisch 5,2 eine Mischung von 5,2 ccm Borsäurestammlösung nach *Sörensen* + 4,8 ccm n/10 HCl.

| Alkoholgehalt Vol.-Proz. | Temperatur | Pufferlösung | Farbgrad $F$ | $\log \frac{F}{1-F}$ | $p_H$ | $p_k$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $p_k$ des m-Nitrophenol | | | | |
| 0 | 12,0 | Borat-HCl-Gemisch 5,2 10fach verdünnt | 0,107 | —0,92 | 7,45 | 8,37 |
| 10 | 13,5 | | 0,155 | —0,74 | 7,83 | 8,57 |
| 20 | 14,5 | | 0,200 | —0,60 | 8,14 | 8,74 |
| 30 | 13,0 | | 0,230 | —0,52 | 8,45 | 8,97 |
| 40 | 14,5 | | 0,250 | —0,48 | 8,68 | 9,16 |
| 50 | 13,0 | | 0,220 | —0,55 | 8,84 | 9,39 |
| 60 | 15,0 | | 0,220 | —0,55 | 9,09 | 9,64 |
| 70 | 14,5 | | 0,460 | —0,07 | 9,76 | 9,83 |
| 80 | 14,5 | | 0,440 | —0,10 | 10,15 | 10,25 |
| 90 | 15,0 | | 0,330 | —0,31 | 10,42 | 10,73 |
| | | $p_k$ des $\alpha$-Dinitrophenol | | | | |
| 0 | 22,0 | n/100 Essigsäure | 0,200 | —0,60 | 3,36 | 3,96 |
| 0 | 10,0 | | 0,160 | —0,72 | 3,32 | 4,04 |
| 10 | 23,0 | | 0,220 | —0,55 | 3,40 | 3,95 |
| 10 | 10,5 | | 0,170 | —0,69 | 3,34 | 4,03 |
| 20 | 24,0 | | 0,250 | —0,48 | 3,47 | 3,95 |
| 20 | 13,0 | | 0,210 | —0,58 | 3,42 | 4,00 |
| 30 | 25,0 | | 0,320 | —0,33 | 3,54 | 3,90 |
| 30 | 14,5 | | 0,240 | —0,50 | 3,49 | 3,99 |
| 40 | 26,0 | | 0,357 | —0,26 | 3,62 | 3,88 |
| 40 | 13,0 | n/10 Essigsäure | 0,115 | —0,89 | 3,14 | 4,03 |
| 50 | 26,0 | n/100 Essigsäure | 0,355 | —0,26 | 3,90 | 4,16 |
| 50 | 15,0 | n/10 Essigsäure | 0,150 | —0,75 | 3,42 | 4,17 |
| | | $p_k$ des p-Nitrophenol | | | | |
| 0 | 10,5 | n/10 Na-Acetat | 0,027 | —1,56 | 5,58 | 7,14 |
| 10 | 11,0 | n/100 Essigsäure, dieses Gemisch 10fach verdünnt | 0,030 | —1,50 | 5,67 | 7,17 |
| 20 | 12,0 | | 0,033 | —1,47 | 5,81 | 7,28 |
| 30 | 11,5 | | 0,043 | —1,35 | 6,03 | 7,38 |
| 40 | 12,0 | | 0,047 | —1,31 | 6,31 | 7,62 |
| 50 | 12,0 | | 0,051 | —1,27 | 6,59 | 7,86 |
| 60 | 12,0 | | 0,058 | —1,21 | 6,90 | 8,11 |
| 70 | 12,0 | | 0,067 | —1,14 | 7,19 | 8,33 |
| 80 | 12,0 | | 0,077 | —1,08 | 7,52 | 8,60 |
| 90 | 12,0 | | 0,093 | —1,00 | 7,90 | 8,90 |

| Alkoholgehalt Vol.-Proz. | Temperatur | Pufferlösung | Farbgrad $F$ | $\log \frac{F}{1-F}$ | $p_H$ | $p_k$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $p_k$ des $\gamma$-Dinitrophenol | | | | |
| 0 | 18,0 | | 0,260 | —0,45 | 4,68 | 5,13 |
| 10 | 9,5 | Standardacetat, 10fach verdünnt | 0,240 | —0,50 | 4,70 | 5,20 |
| 20 | 18,5 | | 0,320 | —0,33 | 4,90 | 5,23 |
| 30 | 10,0 | | 0,310 | —0,35 | 5,03 | 5,39 |
| 40 | 19,0 | | 0,440 | —0,10 | 5,35 | 5,45 |
| 50 | 10,0 | | 0,510 | —0,02 | 5,62 | 5,64 |
| 60 | 19,0 | | 0,650 | + 0,27 | 5,95 | 5,68 |
| 70 | 10,0 | | 0,680 | + 0,33 | 6,26 | 5,93 |
| 80 | 19,5 | | 0,760 | + 0,50 | 6,61 | 6,11 |
| 90 | 19,5 | | 0,790 | + 0,58 | 6,96 | 6,38 |

### 5. Die Eichung des Phenolphthaleins.

Da man auf das Phenolphthalein das einfache Massenwirkungsgesetz nicht anwenden kann, so bleibt nur eine empirische Eichung übrig. Diese wurde in folgenden Versuchen ausgeführt.

Diese Versuche sind in dem Diagramm (Abb. 2) wiedergegeben. Die Ordinate bedeutet den Farbgrad. Als Vergleichslösung zur Bestimmung des Farbgrades wurde stets ein alkalisch-wässerig-alkoholisches Gemisch von gleichem Alkoholgehalt wie die zu untersuchende Lösung benutzt. Die Alkalität wurde durch Natronlauge hergestellt, und zwar wurde für jeden Alkoholgehalt die zur Erzeugung der maximalen Färbung günstigste Laugenkonzentration ausprobiert. Ein allzu großer Überschuß von Lauge muß vermieden werden, weil durch diesen bekanntlich das Phenolphthalein allmählich abblaßt. Bei einem Alkoholgehalt von 0 bis 60 Proz. ist eine n/100 Lauge sicher ausreichend und sicher nicht zu stark, von 70proz. Alkohol aufwärts ist eine n/10 Lauge die beste Konzentration. Die günstigste Konzentration wurde jedesmal in einem Vorversuch dadurch festgestellt, daß wir beobachteten, daß eine im Vergleich dazu etwa zehnfach größere Laugenkonzentration die Farbtiefe nicht mehr verändert, während noch weitere Erhöhung der Laugenkonzentration schon in merklich kurzer Zeit eine Abblassung hervorbringt.

Die Abszisse gibt das $p_H$ an. Die an jeder Kurve angeschriebene Zahl ist der Gehalt an Alkohol in Volumprozenten. Die durch die Versuche gewonnenen Punkte wurden nach Augenmaß vervollständigt und haben daher nur den Wert von Interpolationskurven für praktische Zwecke. In Anbetracht der Fehlergrenzen, deren man sich bei jeder $p_H$-Bestimmung mit Indikatoren bewußt bleiben muß, dürften diese Kurven die erforderliche Genauigkeit besitzen. Bei den $p_H$-Messungen mit Indikatoren in alkoholisch-wässerigen Lösungen müssen wir uns bewußt bleiben, daß wir an die Genauigkeit nicht übertriebene An-

| Alkoholgehalt Vol.-Proz. | Temperatur | Pufferlösung | | Farbgrad $F$ | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 18,0 | Borat-HCl-Gemisch 9,2 (10fach verdünnt) | | 0,130 | 9,12 |
| 0 | 18,0 | dasselbe Gemisch 6,4 (10fach verdünnt) | | 0,017 | 8,60 |
| 0 | 18,0 | reine Boratlösung (10fach verdünnt) | | 0,130 | 9,18 |
| 0 | 18,0 | dieselbe Lösung (3fach verdünnt) | | 0,140 | 9,16 |
| 0 | 18,5 | dieselbe Lösung (10fach verdünnt) | | 0,130 | 9,18 |
| 0 | 18,5 | Borat-HCl-Gemisch 8,8 | | 0,120 | 9,07 |
| 0 | 18,5 | dasselbe Gemisch 6,4 | | 0,027 | 8,62 |
| 0 | 19,0 | dasselbe Gemisch 7,2 | | 0,042 | 8,82 |
| 0 | 19,0 | Borat-NaOH-Gemisch 8,4 | | 0,280 | 9,30 |
| 0 | 19,0 | dasselbe Gemisch 6,8 | | 0,430 | 9,58 |
| 0 | 19,5 | dasselbe Gemisch 8,4 | | 0,280 | 9,35 |
| 0 | 20,0 | dasselbe Gemisch 9,2 | | 0,220 | 9,27 |
| 0 | 24,0 | Glykokoll-NaOH-Gemisch 5,0 | | 0,600 | 9,79 |
| 10 | 18,0 | Borat-NaOH-Gemisch 7,4 | | 0,400 | 9,71 |
| 10 | 18,0 | Borat-HCl-Gemisch 8,4 | | 0,110 | 9,23 |
| 10 | 18,5 | dasselbe Gemisch 6,4 | | 0,030 | 8,85 |
| 10 | 19,0 | dasselbe Gemisch 8,4 | | 0,120 | 9,23 |
| 10 | 19,0 | reine Boratlösung | | 0,200 | 9,43 |
| 10 | 24,0 | Glykokoll-NaOH-Gemisch 5,0 | | 0,400 | 9,74 |
| 20 | 18,0 | Borat-HCl-Gemisch 6,0 | | 0,017 | 8,99 |
| 20 | 18,0 | dasselbe Gemisch 7,6 | | 0,070 | 9,41 |
| 20 | 18,0 | Borat-NaOH-Gemisch 6,2 | | 0,570 | 10,24 |
| 20 | 19,5 | dasselbe Gemisch 7,6 | | 0,330 | 9,96 |
| 20 | 24,0 | Glykokoll-NaOH-Gemisch 5,2 | | 0,150 | 9,70 |
| 30 | 18,0 | reine Boratlösung | | 0,137 | 9,95 |
| 30 | 18,0 | Borat-HCl-Gemisch 7,2 | | 0,047 | 9,65 |
| 30 | 18,0 | dasselbe Gemisch 6,0 | | 0,013 | 9,22 |
| 30 | 20,0 | Borat-NaOH-Gemisch 8,2 | | 0,267 | 10,20 |
| 30 | 24,0 | Glykokoll-NaOH-Gemisch 5,0 | (10fach verdünnt) | 0,060 | 9,67 |
| 40 | 18,0 | reine Boratlösung | | 0,117 | 10,28 |
| 40 | 18,0 | Borat-NaOH-Gemisch 7,2 | | 0,307 | 10,61 |
| 40 | 18,0 | dasselbe Gemisch 7,2 | | 0,250 | 10,50 |
| 40 | 19,0 | dasselbe Gemisch 8,8 | | 0,150 | 10,35 |
| 40 | 24,0 | Glykokoll-NaOH-Gemisch 5,0 | | 0,020 | 9,71 |
| 50 | 20,0 | reine Boratlösung | | 0,130 | 10,65 |
| 50 | 21,0 | Borat-HCl-Gemisch 6,4 | | 0,030 | 10,04 |
| 50 | 21,0 | dasselbe Gemisch 8,2 | | 0,080 | 10,42 |
| 50 | 21,0 | Borat-NaOH-Gemisch 7,8 | | 0,287 | 10,92 |
| 60 | 16,5 | reine Boratlösung | | 0,170 | 11,06 |
| 60 | 17,0 | Borat-HCl-Gemisch 7,2 | | 0,060 | 10,73 |
| 60 | 18,0 | dasselbe Gemisch 5,6 | | 0,000 | 10,03 |
| 60 | 18,5 | Borat-NaOH-Gemisch 6,0 | | 0,540 | 11,57 |
| 60 | 18,5 | dasselbe Gemisch 8,8 | | 0,225 | 11,13 |
| 70 | 19,5 | reine Boratlösung | | 0,177 | 11,47 |
| 70 | 19,5 | Borat-HCl-Gemisch 6,2 | | 0,027 | 10,77 |
| 70 | 19,5 | dasselbe Gemisch 8,4 | | 0,110 | 11,27 |
| 80 | 15,0 | reine Boratlösung | | 0,217 | 11,91 |
| 80 | 18,0 | Borat-HCl-Gemisch 6,4 | | 0,040 | 11,21 |
| 80 | 19,0 | dasselbe Gemisch 8,2 | | 0,110 | 11,57 |
| 80 | 19,5 | dasselbe Gemisch 9,4 | | 0,190 | 11,83 |
| 80 | 18,0 | dasselbe Gemisch 5,8 | | 0,020 | 10,88 |

| Alkoholgehalt Vol.-Proz. | Temperatur | Pufferlösung | Farbgrad $F$ | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|
| 90 | 18,0 | Borat-HCl-Gemisch 8,8 (20fach verdünnt) | 0,061 | 11,59 |
| 90 | 21,0 | Borat-NaOH-Gemisch 8,0 (20fach verdünnt) | 0,430 | 12,47 |
| 90 | 21,0 | reine Boratlösung (20fach verdünnt) | 0,140 | 11,97 |
| 95 | 17,0 | gesättigte Boratlösung in betr. Alkoholvolumen | 0,140 | 12,16 |
| 95 | 17,6 | Gemisch von ders. Lösung 9,0, NaOH 1,0 | 0,240 | 12,32 |
| 95 | 17,6 | Gemisch von ders. Lösung 9,2, HCl 0,8 | 0,060 | 11,81 |

forderungen stellen dürfen, und deshalb haben wir auch die Eichung weiterer Korrekturen betreffend Salzfehler und Temperatur unterlassen.

Wir möchten besonders darauf aufmerksam machen, daß unsere Untersuchungen sich nicht auf die *absolute* Veränderung der Farbtiefe und der Nuance beziehen, welche der Alkohol auf den Indikator ausübt. In Bestätigung vieler früherer Beobachtungen konnten wir feststellen, daß z. B. beim Phenolphthalein durch Alkoholzusatz auch die bei günstigster Alkalität maximal erreichbare Farbtiefe geringer ist als in Wasser, und daß sich gleichzeitig die Nuance etwas nach Violett verändert. Diese Farbänderungen haben wir in dieser Arbeit gar nicht berücksichtigt. Sie sind zwar für die Theorie des Zusammenhangs von Farbe und Konstitution von Belang, sie berühren aber unsere Fragestellung nicht, da wir bei unserer Methode die zu untersuchende Lösung stets mit einer Lösung von gleichem Alkoholgehalt vergleichen.

### 6. Die praktische Vorschrift der $p_H$-Messung in alkoholischen Lösungen.

Die praktische Anwendung der Indikatorenmethode ohne Puffer in wässerig-alkoholischen Lösungen gestaltet sich demnach folgendermaßen: Im wesentlichen ist sie genau so, wie sie von *Michaelis* und *Gyemant* für wässerige Lösung beschrieben worden ist. Der Unterschied ist nur folgender: die alkalische Vergleichslösung muß denselben Alkoholgehalt haben, wie die zu untersuchende Lösung. Die zur Erreichung der maximalen Farbtiefe notwendige Alkalität muß immer durch NaOH hergestellt werden; die definitive Konzentration dieser Lauge ist am besten bei einem Alkoholgehalt von 0 bis 70 Proz. n/100 Natronlauge, bei höherem Alkoholgehalt n/10 Natronlauge. Nachdem durch einen Reihenversuch der Farbgrad $F$ festgestellt ist, wird für die vier von uns geeichten Indikatoren der Nitrophenolreihe das $p_H$ in derselben Weise berechnet wie für wässerige Lösungen, mit dem

einzigen Unterschied, daß für $p_k$ der für den betreffenden Alkoholgehalt gültige Wert eingesetzt wird, welcher aus Tabelle I abgelesen werden kann. Für Phenolphthalein benutzt man statt dessen Tabelle II oder Abb. 2. Hier ist die Ordinate der Farbgrad, die Abszisse das $p_H$, und an jeder einzelnen Kurve der Schar ist der für sie gültige Alkoholgehalt angeschrieben.

Hiermit glauben wir, die Methode mit der für praktische Zwecke genügenden Genauigkeit ausgearbeitet zu haben. Es wäre nicht angebracht, die Anforderungen an Genauigkeit auf die Spitze zu treiben. Für wirkliche Genauigkeit bleibt nach wie vor die Gaskettenmethode übrig, aber die Fälle, in denen unsere verhältnismäßig ungenauere, aber einfache Methode selbst in dieser rohen Form erwünscht ist, sind zahlreich genug.

*I. Tabelle* für das $p_k$ der Nitrophenolreihe bei variiertem Alkoholgehalt (nach Interpolation der Versuchsresultate gewonnen).

| | $p_k$ bei einem Alkoholgehalt von Vol.-Proz. | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 |
| m-Nitrophenol . | 8,37 | 8,56 | 8,75 | 8,97 | 9,15 | 9,40 | 9,64 | 9,92 | 10,24 | 10,73 |
| p-Nitrophenol . | 7,15 | 7,17 | 7,28 | 7,38 | 7,63 | 7,85 | 8,11 | 8,34 | 8,59 | 8,90 |
| γ-Dinitrophenol | 5,15 | 5,20 | 5,23 | 5,39 | 5,45 | 5,58 | 5,70 | 5,95 | 6,08 | 9,40 |
| α-Dinitrophenol | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,15 | — | — | — | — |

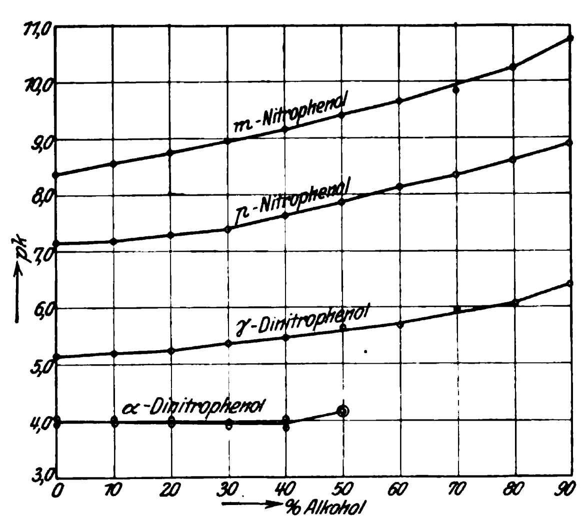



Abb. 1. Interpolations-Diagramm für die Indikatorkonstanten der Nitrophenolreihe. Abszisse: Volum-Proz. Alkohol. Ordinate: $p_k$ des Indikators.

*II. Tabelle* über den Zusammenhang des Farbgrades $F$ und des $p_H$ beim Phenolphthalein bei variiertem Alkoholgehalt.

| $F$ | $p_H$ bei einem Alkoholgehalt von Vol.-Proz. | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 95 |
| 0,01 | 8,5 | 8,7 | 8,9 | 9,2 | 9,5 | 9,8 | 10,2 | 10,6 | 10,8 | 11,1 | 11,3 |
| 0,02 | 8,6 | 8,8 | 9,0 | 9,3 | 9,7 | 10,0 | 10,4 | 10,7 | 11,0 | 11,2 | 11,5 |
| 0,04 | 8,8 | 8,9 | 9,2 | 9,5 | 9,9 | 10,2 | 10,6 | 10,9 | 11,2 | 11,4 | 11,7 |
| 0,06 | 8,9 | 9,0 | 9,4 | 9,7 | 10,0 | 10,3 | 10,7 | 11,0 | 11,3 | 11,6 | 11,8 |
| 0,08 | 8,98 | 9,1 | 9,5 | 9,8 | 10,1 | 10,4 | 10,8 | 11,1 | 11,4 | 11,7 | 11,9 |
| 0,1 | 9,04 | 9,2 | 9,5 | 9,8 | 10,2 | 10,5 | 10,9 | 11,2 | 11,5 | 11,8 | 12,0 |
| 0,2 | 9,22 | 9,4 | 9,8 | 10,1 | 10,5 | 10,8 | 11,1 | 11,5 | 11,9 | 12,1 | 12,3 |
| 0,3 | 9,38 | 9,6 | 9,9 | 10,2 | 10,6 | 10,9 | 11,3 | 11,7 | 12,1 | 12,3 | 12,4 |
| 0,4 | 9,54 | 9,7 | 10,1 | 10,4 | 10,8 | 11,1 | 11,4 | 11,8 | 12,2 | 12,4 | 12,6 |
| 0,5 | 9,70 | 9,9 | 10,2 | 10,5 | 10,9 | 11,2 | 11,5 | 12,0 | 12,4 | 12,6 | 12,7 |

Abb. 2. Diagramm für die $p_H$-Bestimmung in wässerig-alkoholischen Lösungen mit Phenolphthalein. Abszisse: $p_H$. Ordinate: Farbgrad $F$. Die Zahlen an den Kurven bedeuten den Alkoholgehalt der Lösung in Volumprozenten. Bei der Kurve für 0 Proz. Alkohol sind die älteren Werte nach *Michaelis* und *Gyemant*, mit + bezeichnet, nochmals eingetragen. Sie decken sich im allgemeinen befriedigend mit den neueren [1]).

[1]) Die von *Kolthoff* neuerdings empfohlenen Werte (Der Gebrauch von Farbenindikatoren, 2. Aufl., S. 138, Berlin 1923) decken sich mit ihnen im allgemeinen nicht so gut.

# Über Protoplasmaveränderungen bei Plasmolyse.

Von

**N. Cholodny.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Kiew.)

*(Eingegangen am 19. Februar 1924.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

Wie bekannt, wird bei den Untersuchungen über Stoffaufnahme bei der Pflanzenzelle stets eine große Bedeutung der Plasmolyse beigemessen. Diese Erscheinung diente und dient noch häufig bis jetzt als das einzige Kriterium bei der Lösung der Frage, ob das Plasma für diesen oder jenen Stoff permeabel ist. Man nimmt gewöhnlich an, daß ein Stoff durch das Plasma nur in dem Falle diffundieren kann, wenn in dessen Lösung keine Plasmolyse beobachtet wird. Es ist doch allbekannt, daß gerade solche typischen Plasmolytika, wie Zucker und Salze, zu den wichtigsten, für die Zelle ganz unentbehrlichen Nährstoffen gehören. Daraus kann man mit voller Sicherheit schließen: erstens, daß in schwachen Konzentrationen, um welche es sich bei natürlichem Stoffwechsel handelt, sämtliche Nährstoffe in die Zelle eindringen können, und zweitens, daß bei höheren Konzentrationen dieselben Stoffe die oberflächliche Plasmaschicht mehr oder weniger verändern sollen, indem sie deren Permeabilität stark erniedrigen und auf diese Weise sich selbst den Weg ins Zellinnere absperren. Den letzten Schluß könnte man bereits durch einige Angaben von *Küster*[1]) und *Hecht*[2]) begründen. Vor kurzem hat *Hansteen-Cranner*[3]) festgestellt, daß starke (normale) Salzlösungen in der Plasmahaut verschiedene anfangs reversible, dann irreversible kolloidchemische Veränderungen (Fällungen, Verdichtungen) hervorrufen, welche man einstweilen sogar unmittelbar unter dem Ultramikroskop beobachten kann. Daraus

---

[1]) *E. Küster*, Zeitschr. f. Bot. **2**, 689, 1910.
[2]) *K. Hecht*, Beiträge zur Biologie der Pflanzen **11**, 137, 1912.
[3]) *B. Hansteen-Cranner*, Meldinger fra Norges Landbrukshoiskole **1922.**

hat *Hansteen-Cranner* ganz richtig den Schluß gezogen, daß „die plasmolytischen Verhältnisse ... uns .. gar keinen richtigen Bescheid von den Permeabilitätsverhältnissen in Zellen mit ganz normalen, von starken Stoffkonzentrationen unbeeinflußten Plasmamembranen geben können“[1]).

Wenn die Plasmolyse stets beträchtliche Zustandsänderungen in der oberflächlichen Plasmaschicht hervorruft, so erhebt sich natürlich die Frage, ob in dieser Beziehung irgendwelcher Unterschied zwischen zwei Arten von Plasmolytika — Elektrolyten und Nichtelektrolyten — zu konstatieren ist. Durch die Lösung dieser Frage könnte man vielleicht auch das Wesen der physikalisch-chemischen Erscheinungen, welche unter der Wirkung von stark konzentrierten Lösungen im Plasma stattfinden, etwas klarlegen. Um die nötigen Angriffspunkte zu erhalten, habe ich im Sommer 1923 eine Reihe von Versuchen vorgenommen, deren Ergebnisse ich in diesem Artikel kurz mitteilen möchte.

Wenn man eine Pflanzenzelle in eine plasmolysierende Lösung bringt, deren Konzentration nicht zu viel diejenige des Zellsaftes übertrifft, so kann man in der darauf folgenden Plasmolyse drei Stadien unterscheiden: 1. eine Volumenverminderung oder Zusammenschrumpfung des Plasmaschlauches, wobei das Protoplasma sich von der Zellwand zurückzieht, aber zwischen beiden doch eine Verbindung in Form dünner Plasmafäden oder Stränge zurückbleibt; 2. das Einstellen einer neuen Gleichgewichtslage zwischen dem Zellinhalt und der umgebenden Lösung. Das Zusammenschrumpfen des Plasmaschlauches hört auf und eine Zeitlang sind keine weitere merkbare Veränderungen zu beobachten; 3. eine allmählich eintretende Störung des normalen Plasmazustandes, welche einen pathologischen Charakter hat und häufig ein Verschwinden der Fäden zwischen der Zellwand und dem Plasmakörper, eine Bildung von Haptogenmembranen auf der Plasmaoberfläche u. dgl. hervorruft.

Es fragt sich nun, welches von diesen drei Stadien die größte Aufmerksamkeit verdient, wenn man verschiedene Plasmolytika nach ihrer Wirkung auf das Protoplasma miteinander vergleichen will? Was das erste Stadium betrifft, so kann es zu diesem Zweck kaum als ein zuverlässiges Kriterium angesehen werden, da es zu kurzdauernd ist. Ebensowenig ist auch das dritte, aus irreversiblen Plasmaveränderungen bestehende Stadium wegen seines pathologischen Charakters in Anspruch zu nehmen. So bleibt uns offenbar nichts mehr übrig, als das zweite Stadium zu berücksichtigen, d. h. auf das Moment unsere Aufmerksamkeit zu richten, in welchem der Plasmaschlauch sich zusammenzuschrumpfen aufhört und im kolloidchemischen Zustande des Protoplasmas noch keine pathologische Abänderungen zu konstatieren sind[2]). Auf diese Phase der Plasmolyse beziehen sich hauptsächlich auch meine Beobachtungen.

---

[1]) l. c., S. 136.

[2]) Ob im Plasma wirklich noch keine wesentliche pathologische Veränderungen stattgefunden haben, ist in jedem einzelnen Falle durch Deplasmolyse festzustellen.

Als Versuchsmaterial benutzte ich verschiedenartige sowohl höhere, als auch niedere Vertreter unserer Wasser- und Landflora. Bei höheren Pflanzen untersuchte ich am häufigsten die Epidermiszellen ihrer Blätter und Stengel. Die Schnitte wurden vorläufig mit zweimal aus Glas in Glas destilliertem Wasser abgespült und dann in einem Tropfen desselben Wassers auf den Objektträger gebracht. Damit das Deckgläschen keinen Druck auf die Zellen ausüben könnte, wurden zuweilen darunter kleine Streifchen Pergamentpapier gelegt.

Die plasmolysierende Lösung wurde mit einer kleinen Pipette auf den Objektträger neben dem Deckgläschen aufgetragen und dann vermittelst eines Stückchens Filtrierpapier langsam und vorsichtig durchgesaugt. Das Durchsaugen wurde eingestellt, sobald in den Randzellen des Präparates das Protoplasma sich von der Zellwand abzutrennen anfing. Bei diesem Verfahren konnte man wohl annehmen, daß die Konzentration verschiedener Lösungen bei sämtlichen Versuchen mit einem und demselben Objekt annähernd gleich war.

Von Elektrolyten habe ich als Plasmolytika vorzugsweise die Neutralsalze von Alkali- und Erdalkalimetallen angewandt: $KCl$, $NaCl$, $CaCl_2$, $KNO_3$, $Ca(NO_3)_2$, $K_2SO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $K_2HPO_4$, $K_2H_4C_4O_6$, $K_4FeCy_6$, $NH_4$-Citrat und einige andere. Von Nichtelektrolyten wurden verschiedene Kohlehydrate (hauptsächlich Glucose und Saccharose), höhere Alkohole (Glycerin, Mannit) und Harnstoff ausprobiert. Sämtliche Lösungen hatten gewöhnlich eine molare Konzentration. Die Salze benutzte ich zuweilen in reinen, öfters aber in gemischten Lösungen (z. B. $KCl + CaCl_2$), um die toxische Wirkung von einzelnen Kationen zu vermeiden.

Aus einer großen Anzahl von Versuchen hat es sich herausgestellt, daß in einer überwiegenden Mehrzahl der Fälle, wie es nach den sämtlichen vorigen Untersuchungen wohl zu erwarten war, kein nennenswerter Unterschied in der plasmolytischen Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten zu beobachten ist. Zugleich zeigte es sich, daß alle diese in bezug auf die chemische Natur der Plasmolytika scheinbar sich ganz indifferent verhaltenden Objekte in zwei große Gruppen eingeteilt werden können. Zur ersten Gruppe *A* ist eine Mehrzahl der von mir untersuchten Landgewächse, eigentlich Epidermiszellen ihrer Blätter und Stengel zu stellen. Hier nimmt der Plasmaschlauch, nachdem er sich von der Zellwand abgetrennt hat, die Form eines äußerst unregelmäßigen Körpers an, welcher mit der Zellmembran vermittelst einer Menge ziemlich dicker Plasmafäden und Stränge verbunden ist. Dieses Bild bleibt eine Zeitlang, zuweilen während mehrerer Stunden, ganz unverändert. Die Abb. *A* und *A'*, obgleich sie nicht nach zur Gruppe *A* gehörenden Objekten abgebildet sind, können diesen Typus der Plasmolyse naturgetreu veranschaulichen.

Der zweiten Gruppe *B* ist eine Mehrzahl von Objekten einzureihen, welche Wasserpflanzen angehören. Der sich von der Zellwand zurückziehende Plasmaschlauch zeigt hier schon von Anfang an eine Tendenz, mehr regelmäßige, rundliche Umrisse anzunehmen. Nachdem sich das Gleichgewicht zwischen dem Zelleninhalt und der umgebenden Lösung eingestellt hat, bleibt der Plasmaschlauch innerhalb der Zelle in Form eines mehr oder weniger rundlichen glattrandigen Körpers liegen. Die Verbindung zwischen Plasma und Zellmembran ist auch hier vorhanden, doch sind die Plasmafäden nicht so zahlreich und dick, wie man sie im vorigen Falle beobachten konnte. Einstweilen sind sie sogar fast ganz unsichtbar. Von diesem Typus der Plasmolyse vermag man sich aus den Abb. *B* und *B'* eine Vorstellung zu bilden.

Wie ich schon bemerkt habe, ist der Plasmolysetypus *A* für die Epidermiszellen der Landgewächse charakteristisch; bei den Wasserpflanzen geht dagegen die Plasmolyse am häufigsten nach dem Typus *B* vor sich. Es ist aber hervorzuheben, daß auch solche Fälle nicht selten sind, wo man bei echten Landgewächsen eine Plasmolyse nach dem Typus *B* und umgekehrt bei Wasserpflanzen nach dem Typus *A* beobachten kann.

Die von mir erhaltenen Resultate scheinen bloß dafür zu sprechen, daß der physikalisch-chemische Zustand des Protoplasmas bei verschiedenen Pflanzen recht verschieden ist. Was nun die Frage betrifft, ob die oberflächliche Plasmaschicht durch starke Lösungen von Elektrolyten und Nichtelektrolyten ganz gleich- oder ungleichartig beeinflußt wird, so ist aus den obenerwähnten, rein negativen Ergebnissen darüber kein bestimmter Schluß zu ziehen. Denn erstens kann der Umstand, daß man unter dem

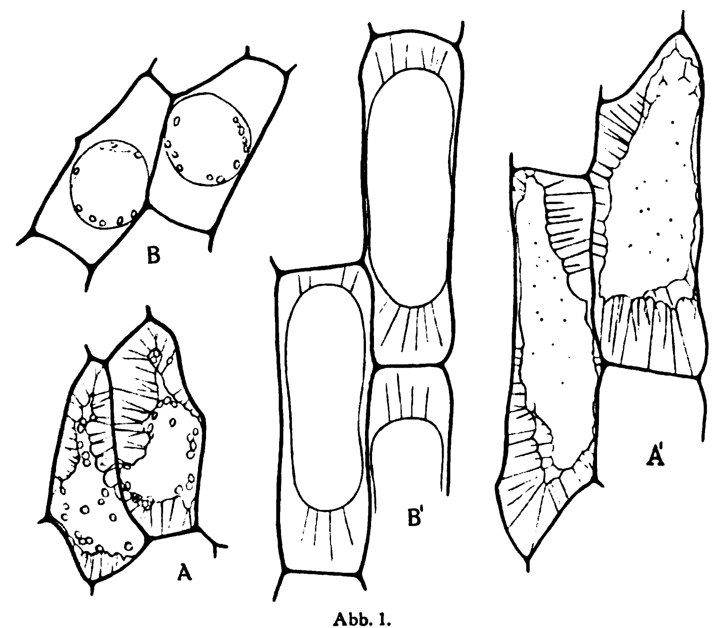



Abb. 1.

Mikroskop keinen merkbaren Unterschied in der Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten beobachtet, durch die Unvollkommenheit der Beobachtungsmethode selbst erklärt werden. Andererseits ist es wohl möglich, daß, damit sich eine Verschiedenheit in der Wirkungsweise der genannten Plasmolytika äußern könnte, ein spezieller physikalisch-chemischer Zustand des Protoplasmas nötig ist, welcher in der Natur recht selten vorkommt. Um die erste Voraussetzung zu prüfen, könnte man sich wohl zu einer ultramikroskopischen Untersuchung wenden, was ich zurzeit nicht imstande war zu verwirklichen. Was nun die zweite Vermutung betrifft, so ist es mir praktisch bald geglückt, einige Objekte zu finden, bei welchen sich ein Unterschied in der Wirkungsweise von Elektrolyten und Nichtelektrolyten sehr scharf und anschaulich äußerte.

Als erstes und interessantestes von diesen Objekten sind die Knospenschuppen von *Hydrocharis morsus ranae* anzugeben. Wie bekannt, entwickeln

sich die Knospen dieser Pflanze unter Wasser und sind von außen mit mehreren in dünne und durchsichtige Lamellen modifizierten Blättern umhüllt. Jede solche Lamelle besteht nur aus zwei Schichten großer dünnwandiger lebender Zellen, die ziemlich plasmareich sind und viele Chlorophyllkörner enthalten. Es genügt, eine derartige Schuppe mit einer feinen Schere in mehrere Stückchen zu schneiden, um ein Präparat zu bekommen, welches bei verschiedenen, mit einer Beobachtung in vivo verbundenen Versuchen vorzüglich dienen kann.

Als ich solche Schnitte der Einwirkung verschiedener plasmolysierender Lösungen aussetzte, konnte ich mich bald überzeugen, daß sämtliche Salze von einbasischen Säuren hier immer eine Plasmolyse nach dem Typus *A* hervorrufen (s. Abb. *A*). Zugleich war in denselben Zellen unter der Wirkung sämtlicher von mir angewandten Nichtelektrolyten regelmäßig ein Bild vom Typus *B* zu beobachten (Abb. *B*). Obgleich ich diese Versuche mehrmals mit verschiedenen mir zur Verfügung stehenden Plasmolytika wiederholte, konnte ich keine einzige Ausnahme von dieser Regel feststellen. Was die Salze von zwei- und mehrbasischen Säuren betrifft, so wird darüber etwas später die Rede sein.

Ein ganz analoges Resultat habe ich auch mit Epidermiszellen von der Innenseite der Zwiebelschuppen (*Allium Cepa*) erhalten. Übrigens verhält sich dieses klassische Objekt in einer etwas komplizierteren Weise. Wenn man die Epidermiszellen, unmittelbar nachdem sie von der Schuppe abgezogen sind, in eine plasmolysierende Lösung bringt, so ist in sämtlichen Lösungen, sowohl von Elektrolyten als auch von Nichtelektrolyten, die Plasmolyse vom Typus *A* zu beobachten. Wenn man aber dasselbe Präparat vorläufig einem gründlichen Durchwässern aussetzt, indem man es in einer Schale mit destilliertem oder Leitungswasser während 24 bis 48 Stunden liegen läßt, so erhält man ein Objekt, welches auf die Wirkung von verschiedenen Plasmolytika im großen und ganzen ebenso reagiert, wie die obenerwähnten Zellen von *Hydrocharis morsus ranae* (s. Abb. *A'* und *B'*). Nur in bezug auf die Wirkung der Salze mehrbasischer Säuren ist ein Unterschied zu verzeichnen, wovon weiter unten gesagt wird.

Bei weiteren Nachforschungen ist es mir zurzeit nicht gelungen, noch andere Objekte aufzufinden, bei welchen der Unterschied in der Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten sich ebenso klar und regelmäßig äußerte, wie bei den zwei obigen. Zwar konnte ich bei einigen Objekten (z. B. bei den Epidermiszellen der Blattoberseite von *Polygonatum officinale* oder bei der Stengelepidermis von *Fagopyrum esculentum*) *zuweilen* unter der Wirkung *gewisser* Plasmolytika dieselben Verhältnisse, wie bei *Hydrocharis morsus ranae* oder *Allium Cepa* konstatieren, aber meistens war bei diesen Objekten in sämtlichen Lösungen, unabhängig von deren chemischen Natur, ein und dasselbe Bild zu beobachten.

Jedenfalls unterliegt es keinem Zweifel, daß es Pflanzenzellen gibt, deren Plasma in solch einem physikalisch-chemischen Zustande auftritt, daß es auf die Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten ganz verschieden reagiert: durch erstere wird hier eine Plasmolyse nach dem Typus *A*, durch letztere nach dem Typus *B* hervorgerufen. Solche Zellen dürften wohl als ein dritter Typus *A B* bezeichnet werden.

Aus den bisher erhaltenen Resultaten erheben sich natürlich zwei neue Fragen. Erstens, wie ist es zu erklären, daß verschiedene Zellen in bezug auf Plasmolytika sich verschiedenartig verhalten, mit anderen Worten, daß es drei Zellenarten *A*, *B* und *A B* gibt? Und zweitens, wo liegt die

Ursache der ungleichartigen Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf das Plasma der Zellen *A B*?

Was nun die erste Frage betrifft, so kann man wohl kaum daran zweifeln, daß einer bei verschiedenen Pflanzen zu beobachtenden Mannigfaltigkeit der Plasmolyseerscheinungen eine entsprechende Mannigfaltigkeit der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Plasmas dieser Pflanzen zugrunde liegt. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist hier eine entscheidende Rolle der Plasmaviskosität zuzuschreiben. Insofern man darüber nach der äußeren Gestalt des Plasmaschlauches urteilen kann, hat die Plasmaviskosität bei den Zellen *A* den größten, bei den Zellen *B* den kleinsten Wert. Die Zellen vom Typus *A B* müssen dann ihrer Plasmaviskosität nach offenbar eine mittlere Stelle einnehmen.

Falls diese Vermutung richtig ist, so finden wir darin einen Stützpunkt, um auch die zweite Frage beantworten zu können. Wie ich es schon an einer anderen Stelle gezeigt habe[1]), sind in Pflanzenzellen sogar unter der Wirkung ganz verdünnter Salzlösungen einige Erscheinungen zu beobachten, welche nur durch eine Plasmaviskositätserhöhung erklärt werden können. Es ist wohl höchst wahrscheinlich, daß dieselben Stoffe in deren viel stärkeren Konzentrationen, wie man sie zur Plasmolyse verwendet, eine ganz analoge Veränderung in einem noch höheren Maße hervorrufen werden. Da nun sämtliche von mir angewandten Salze von einbasischen Säuren in den Zellen vom Typus *A B* einen und denselben Effekt hervorrufen, so ist es klar, daß man eine Ursache dieser Viskositätsänderung in irgendwelchen rein physikalischen Erscheinungen suchen muß, d. h. in einer Wirkung der elektrischen Ladungen, die mit Salzionen verbunden sind. Insoweit es uns bekannt, ist die disperse Phase des Plasmas immer negativ geladen; folglich sind die durch Elektrolyte hervorgerufenen Plasmaveränderungen in erster Linie dem positiv geladenen Teil der Salze, d. h. deren Kationen zuzuschreiben. Diesen letzten Schluß kann man durch eine interessante Tatsache bestätigen, welche ich bei Versuchen mit *Hydrocharis morsus ranae* festgestellt habe. Wie schon bemerkt wurde, ist bei diesem Objekt die Plasmolyse vom Typus *A* nur unter der Wirkung der Salze von einbasischen Säuren zu beobachten. Sämtliche von mir angewandten Salze von Schwefel-, Phosphor-, Wein- und Citronensäure rufen hier stets eine Plasmolyse vom Typus *B* hervor; mit anderen Worten, es ergibt sich dasselbe Bild, wie man es in den Lösungen von Nichtleitern beobachten kann.

Es ist der Gedanke naheliegend, daß diese Tatsache durch die Wirkung auf das Plasma mehrwertiger Anionen, welche den Einfluß positiv geladener Salzionen hemmen, zu erklären ist.

Weiterhin ist es bemerkenswert, daß bei *Allium Cepa* sich ein ganz anderes Resultat ergibt: hier erzeugen sämtliche Salze sowohl ein- als auch mehrbasischer Säuren immer die Plasmolyse nach dem Typus *A*. Übrigens muß man sich darüber nicht wundern, da das Plasma der Epidermiszellen von *Allium Cepa* seinen physikalisch-chemischen Eigenschaften nach näher den Zellen vom Typus *A* als denen von *B* steht.

Obgleich eine unmittelbare Beobachtung unter dem Mikroskop einen merkbaren Unterschied in der plasmolytischen Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten nur bei einer kleinen Gruppe von Objekten *A B* zeigt, ist doch daraus wohl nicht zu schließen, daß in den Zellen vom Typus *A*

---

[1]) *N. Cholodny*, Beihefte z. Botan. Centralbl. **39**, Abt. I, S. 231, 1923.

und *B* beide Arten von Plasmolytika ganz gleiche Veränderungen hervorrufen. Man kann dagegen kaum daran zweifeln, daß auch bei diesen Objekten unter dem Einfluß der Elektrolyte im Plasma ebensolche kolloidchemische Erscheinungen wie in der Gruppe *A B* stattfinden. Daß diese inneren Veränderungen auf die Plasmolyseerscheinung keinen merklichen Einfluß ausüben, ist leicht erklärbar: Die Zellen vom Typus *A* besitzen eine so große Plasmaviskosität, daß eine weitere, durch die Salzwirkung hervorgerufene, relativ geringfügige Viskositätsvergrößerung das äußere Aussehen des Plasmaschlauches wahrnehmbar nicht beeinflussen kann. Andererseits muß die Plasmaviskosität in den Zellen *B* einen so kleinen Wert haben, daß auch hier eine Viskositätserhöhung während der Plasmolyse ungenügend ist, um das Auftreten unregelmäßiger Formen bei dem sich zusammenschrumpfenden Plasmakörper hervorrufen zu können. Offenbar muß dazu das Protoplasma einen streng bestimmten mittleren Viskositätsgrad besitzen, welcher unter natürlichen Verhältnissen nur als eine äußerst seltene Erscheinung bei einigen wenigen Pflanzenzellen vorkommt.

Was die Plasmolytika-Nichtelektrolyte betrifft, so müssen freilich auch ihre Lösungen den physikalisch-chemischen Zustand des Protoplasmas mehr oder weniger beeinflussen, indem sie das Wasser demselben entziehen oder das Plasma etwas verdichten usw. Man kann z. B. leicht beobachten, wie in den Zellen der Knospenschuppe von *Hydrocharis morsus ranae* unter der plasmolytischen Wirkung einer Zuckerlösung die Chlorophyllkörner eine Volumverminderung und sogar eine merkbare Formänderung erfahren. Zugleich müssen wohl ganz analoge Erscheinungen auch im Plasma selbst stattfinden, obwohl sie nicht unmittelbar wahrzunehmen sind.

Aus all dem oben Gesagten ist zu folgern, daß die Erscheinung der Plasmolyse, welche in der Geschichte der Physiologie schon eine so hervorragende Rolle gespielt hat, uns noch ein Mittel gibt, den physikalisch-chemischen Zustand des Plasmas gewissermaßen zu beurteilen. Obgleich diese Methode zweifellos sehr primitiv ist und für quantitative Bestimmungen wohl ganz ungeeignet zu sein scheint, glaube ich doch, daß auf diesem, noch so wenig erforschten Gebiet keine neue Untersuchungsmethode zu vernachlässigen ist.

## Zusammenfassung.


1. Bei Plasmolyse erfährt die oberflächliche Plasmaschicht mehr oder weniger beträchtliche kolloidchemische Veränderungen.

2. Die durch Nichtelektrolyte und Elektrolyte hervorgerufenen Zustandsänderungen des Protoplasmas sind ungleichartig: Indem die ersteren dem Anschein nach bloß wasserentziehend und verdichtend einwirken, wird durch die letzteren außerdem eine Plasmaviskositätsvergrößerung verursacht.

3. Bei einigen Pflanzenzellen läßt sich dieser Unterschied in der plasmolytischen Wirkung von Elektrolyten und Nichtleitern unmittelbar unter dem Mikroskop beobachten.

4. Die durch Salzlösungen hervorgerufene Vergrößerung der Plasmaviskosität ist als ein Resultat der Wechselwirkung zwischen den Kationen der Salze und der negativ geladenen dispersen Phase des Protoplasmas zu erklären. In einigen Fällen genügt es, irgendwelche mehrwertige Anionen hinzuzufügen, um diese Wirkung der Kationen aufzuheben.

5. Man kann Beobachtungen über Plasmolyse in der Hinsicht ausnutzen, um den physikalisch-chemischen Zustand des Protoplasmas annähernd zu beurteilen. Soweit nach den hier beschriebenen Versuchen zu schließen ist, unterscheiden sich verschiedene Pflanzenzellen ihrer Plasmaviskosität nach recht merkbar: den größten Wert scheint sie bei einigen Landgewächsen, den geringsten bei einigen Wasserpflanzen zu haben. Unter normalen Verhältnissen stellt die Plasmaviskosität scheinbar eine für jede Zelle charakteristische ungefähr konstante Größe dar.

## Figurenerklärung.

*A* Zwei Zellen der Knospenschuppe von *Hydrocharis morsus ranae.* Plasmolyse in einer NaCl-Lösung.

*A'* Dasselbe bei den Epidermiszellen von Innenseite der Zwiebelschuppe (*Allium Cepa*).

*B* *Hydrocharis morsus ranae.* Plasmolyse in einer Glucoselösung.

*B'* Dasselbe bei *Allium Cepa.*

Sämtliche Figuren sind etwa 30 bis 45 Minuten nach Beginn des Versuchs abgebildet, aber auch 16 Stunden später war in den Zellen ungefähr dasselbe Bild zu beobachten.

Die Präparate von *Allium Cepa* blieben vorläufig während etwa 45 Stunden in Wasser getaucht.

Vergrößerung etwa 200.

# Über Produkte der katalytischen Spaltung von Gänsefedern.

Von

**W. S. Ssadikow** und **N. D. Zelinsky.**

(Aus dem Laboratorium für organische Chemie der Universität zu Moskau.)

*(Eingegangen am 22. Februar 1924.)*

In unserer Mitteilung: „Über Produkte der katalytischen Spaltung von Eiweißstoffen"[1]) war in kurzen Zügen das neue Verfahren der katalytischen Spaltung und die Trennungsmethode der gewonnenen Produkte beschrieben, sowie die meisten Produkte aufgezählt worden. Die vorliegende ausführlichere Abhandlung enthält die experimentellen Belege und sämtliche genaueren Beobachtungen, welche bei einem größeren Versuche der katalytischen Spaltung von Gänsefedern gesammelt wurden.

## Untersuchungen des Ätherextraktes.

Bei andauernder Extraktion des Katalysats aus schwach saurer Lösung mit Äther, die mit Hilfe des *Maassen*schen Extraktors ausgeführt wurde, häufen sich im Ätherkölbchen außer sirupartigen, ätherlöslichen Substanzen weiße kristallinische Massen an, die in Äther nur sehr wenig löslich sind. Von letzteren wurden bei Verarbeitung von 6000 g Federn etwa 32 g gewonnen. Die zwei Hauptfraktionen des Ätherextraktes sind also: A. kristallinische Massen, B. Sirup (etwa 50 g). Beide Fraktionen enthalten keine Aminosäuren, denn sie reagieren gegen Triketohydrindenhydrat und gegen $Cu(OH)_2$ negativ. Aber nach dem Kochen mit konzentrierter HCl, bzw. nach Behandlung mit 0,2proz. NaOH im Einschlußrohr bei 120°, spalten sich diese beiden Fraktionen unter Bildung von Aminosäuren. Auf diese Weise können die vorliegenden Produkte ihrer Natur nach teilweise als Diketopiperazinderivate aufgeklärt werden.

### *Fraktion A.*

Die weiße Kristallmasse von Peptidanhydriden wurde der fraktionierten Kristallisation aus Alkohol unterworfen. Man erhält folgende Fraktionen mit den Schmelzpunkten:

| | |
|---|---|
| I | 265° |
| II | 249° |
| III | 243° |
| IV | 260° |
| V | 237° |

---

[1]) Diese Zeitschr. **136**, 241, 1923.

Die erste Fraktion mit dem Schmelzpunkte 265° wurde nochmals aus heißem Alkohol umkristallisiert, wobei sich der Schmelzpunkt auf 271° änderte; nach nochmaligem Umkristallisieren war der Schmelzpunkt 272°. Die Substanz ist in heißem Alkohol löslich und scheidet sich beim Erkalten der alkoholischen Lösung in schönen, weißen Nadeln aus. Sie zeigt keine Reaktionen auf Aminosäuren [Triketohydrindenhydrat und $Cu(OH)_2$]. Diese beiden Reaktionen erweisen sich positiv nach Spaltung der Substanz mit konzentrierter HCl.

Die Substanz wurde noch viermal aus heißem Eisessig umkristallisiert, wobei der Schmelzpunkt sich nicht mehr änderte (272°).

0,2162 g Substanz: 0,4958 g $CO_2$; 0,1851 g $H_2O$.
0,1552 g Substanz: $v$ = 18,6 ccm (23°, 753 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C | 62,54 Proz. | 62,26 Proz. |
| H | 9,51 „ | 9,50 „ |
| N | 13,38 „ | 13,21 „ |

Molekulargewicht: 220,7; 219,3; 212.

Die Substanz mit dem Schmelzpunkt 272° ist also entweder Leucyl-valin-anhydrid oder Valyl-leucin-anhydrid. Synthetisches Valyl-leucin-anhydrid hat F. 273°, während l-Leucyl-d-valin-anhydrid bei 282° schmilzt.

Die *zweite Fraktion* mit F. 249° gab nach dem Umkristallisieren aus Alkohol die Fraktionen mit den Schmelzpunkten: 1. 261°; 2. 249°; 3. 249°.

Die Fraktion mit F. 261° wurde nach nochmaligem Umkristallisieren aus Eisessig analysiert.

0,1594 g Substanz: 0,3646 g $CO_2$; 0,1374 g $H_2O$.
0,1013 g Substanz: $v$ = 11,8 ccm (20°, 748 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C | 62,38 Proz. | 62,26 Proz. |
| H | 9,64 „ | 9,50 „ |
| N | 13,11 „ | 13,21 „ |

Die Substanz mit F. 261° entspricht der Zusammensetzung nach ebenfalls dem Valyl-leucin-anhydrid.

Die vereinigten Fraktionen 2 und 3 mit F. 249° zeigten nach dem Umkristallisieren aus Eisessig F. 251°.

0,2015 g Substanz: 0,4559 g $CO_2$; 0,1586 g $H_2O$.
0,1674 g Substanz: $v$ = 19 ccm (19,3°, 763 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C | 61,70 Proz. | 62,26 Proz. |
| H | 8,74 „ | 9,50 „ |
| N | 13,29 „ | 13,21 „ |

Die Substanz mit F. 251° ist wahrscheinlich ein nicht ganz einheitliches Valyl-leucin-anhydrid, worauf der niedrigere Schmelzpunkt und die kleineren Wasserstoff- und Kohlenstoffwerte hinweisen.

Die *dritte Fraktion* mit F. 243° gab nach einem nochmaligen Umkristallisieren die Substanzen mit F. 249,5° und F. 241°; die Ausbeuten von diesen Substanzen waren gering.

Die Substanz mit F. 241° enthielt 13,21 Proz. N.
0,1130 g Substanz: $v$ = 13,3 ccm (21°, 748 mm).

Die *vierte Fraktion* mit F. 260° gab nach dem Umkristallisieren aus Alkohol die Substanz mit F. 268,5°.

0,1104 g Substanz: 0,2565 g $CO_2$; 0,0571 g $H_2O$.
0,0825 g Substanz: $v$ = 10,4 ccm (21°, 743 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{10}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 63,37 Proz. | 63,15 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 5,79 „ | 5,26 „ |
| N . . . . . . . . . | 14,90 „ | 14,73 „ |

Nach der Zusammensetzung ist die Substanz ein Phenyl-glycyl-glycin-anhydrid.

Die *fünfte Fraktion* mit F. 237° wurde durch Kristallisation in zwei Substanzen getrennt; die erste hatte F. 230°, die zweite F. 237°.

*Substanz mit F. 230°.*

0,0932 g Substanz: 0,2171 g $CO_2$; 0,0740 g $H_2O$.
0,1412 g Substanz: $v$ = 16,7 ccm (21°, 745 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{18}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 63,53 Proz. | 62,86 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 8,88 „ | 8,60 „ |
| N . . . . . . . . . | 13,19 „ | 13,13 „ |

Die Substanz ist nicht ganz einheitlich und ist wahrscheinlich ein Prolyl-leucin-anhydrid. Das Prolyl-leucin-anhydrid von *E. Fischer* und *Reif* hat F. 217°.

*Substanz mit F. 237°.*

0,1155 g Substanz: 0,2685 g $CO_2$; 0,0943 g $H_2O$.
0,0873 g Substanz: $v$ = 10,7 ccm (21°, 742 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{18}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 63,39 Proz. | 62,86 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 9,14 „ | 8,60 „ |
| N . . . . . . . . . | 13,61 „ | 13,13 „ |

Diese Substanz ist der Zusammensetzung nach identisch mit Substanz F. 230°.

*Fraktion B* (Sirup).

Der sirupartige Anteil des Ätherauszuges wurde in Alkohol gelöst und die Lösung mit wässeriger NaOH-Lösung gefällt. Der Niederschlag gab nach dem Umkristallisieren F. 252°. Er erwies sich als ein Peptidanhydrid.

0,2141 g Substanz: 0,4848 g $CO_2$; 0,1835 g $H_2O$.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 61,75 Proz. | 62,26 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 9,52 „ | 9,50 „ |

Die Substanz ist wahrscheinlich ein nicht völlig gereinigtes Valyl-leucyl-anhydrid. Das alkalische Filtrat wurde teilweise von Alkohol befreit und mit Äther extrahiert. Im Ätherauszuge häufte sich eine kristallinische Substanz an, welche nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol und Sublimation den Schmelzpunkt 287° besaß.

0,0849 g Substanz: 0,1908 g $CO_2$; 0,0690 g $H_2O$.
0,0630 g Substanz: $v$ = 8,2 ccm (22°, 745 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{18}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 60,50 Proz. | 60,60 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 9,03 „ | 9,09 „ |
| N . . . . . . . . . | 14,44 „ | 14,14 „ |

Die Substanz könnte nach ihrer Zusammensetzung Leucyl-butalanin-anhydrid sein, da sie für Valinanhydrid, das F. 303° hat, zu niedrig schmilzt.

Aus der ausgeätherten alkalischen Lösung kann durch einen großen Überschuß von Wasser ein kristallinischer Niederschlag erzeugt werden. Die Fällung wurde in Methylalkohol gelöst und durch fraktionierte Kristallisation in drei Fraktionen getrennt:

a) ist wenig löslich in Methylalkohol. F. 267°,
b) ist gut löslich in Methylalkohol. F. 219°,
c) ist leicht löslich in Methylalkohol, F. 204.

*Fraktion a. F. 267°.*

0,1123 g Substanz: 0,2610 g $CO_2$; 0,0995 g $H_2O$.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{12}H_{22}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 63,39 Proz. | 63,66 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 9,91 „ | 9,80 „ |

Diese Substanz könnte vielleicht Leucin-anhydrid sein. Das synthetische Leucin-anhydrid besitzt F. 271°. Für eine Stickstoffbestimmung reichte die gewonnene Ausbeute nicht aus.

*Fraktion b. F. 219°.*

0,1596 g Substanz: 0,3637 g $CO_2$; 0,1188 g $H_2O$.
0,1550 g Substanz: $v$ = 18,7 ccm (21°, 744 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{18}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 62,13 Proz. | 62,86 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 8,33 „ | 8,60 „ |
| N . . . . . . . . . | 13,44 „ | 13,13 „ |

Die Analyse zeigt eine annähernde Übereinstimmung mit Prolyl-leucin-anhydrid. Die Substanz erwies sich aber als nicht einheitlich. Man könnte in derselben eine Substanz von der Zusammensetzung $C_{22}H_{36}N_4O_5$ nachweisen, welche vielleicht aus Diaminodicarbonsäuren gebildet ist, wie das in unserer ersten Mitteilung angegeben ist. Wegen zu geringer Ausbeuten ließ sich die Frage nicht entscheiden.

*Fraktion c. F. 204°.*

0,0968 g Substanz: 0,2168 g $CO_2$; 0,0705 g $H_2O$.
0,0490 g Substanz: $v$ = 6,4 ccm (24°, 748 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{16}N_2O_2$ | $C_{10}H_{18}N_2O_2$ |
|---|---|---|---|
| C . . . . | 61,08 Proz. | 61,22 Proz. | 60,60 Proz. |
| H . . . . | 8,15 „ | 8,26 „ | 9,09 „ |
| N . . . . | 14,41 „ | 14,28 „ | 14,14 „ |

Das Peptidanhydrid könnte vielleicht ein dehydrogenisiertes Butalanyl-leucin-anhydrid, $C_{10}H_{16}N_2O_2$, sein, welches aus Butalanyl-leucin-anhydrid, $C_{10}H_{18}N_2O_2$, gebildet ist. Ihm dürfte etwa folgende Struktur zugeschrieben werden:

```
          N——CO
          ||    |
  C2H5 . C    CH . C4H9.
          |    |
          CO—NH
```

Bei der Reinigung wurde noch ein Körper von der Zusammensetzung $C_{16}H_{27}N_3O_3$ angetroffen, welcher wahrscheinlich ein aus einer Monoamino-

dicarbonsäure und einer Diaminomonocarbonsäure gebildetes Anhydrid darstellt. Die Menge reichte zu näherer Untersuchung nicht aus.

Das Filtrat der Wasserfällung wurde neutralisiert und bis zum Sirup eingeengt. Bei Behandlung des Sirups mit Wasser schied sich ein Niederschlag aus, welcher nach dem Umkristallisieren aus Alkohol eine Substanz mit F. 246,5° gab, welche die Zusammensetzung des Valyl-leucin-anhydrids hatte.

0,0858 g Substanz: 0,1955 g $CO_2$; 0,0718 g $H_2O$.
0,1098 g Substanz: $v$ = 13,2 ccm (21°, 736 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C | 62,13 Proz. | 62,26 Proz. |
| H | 9,36 „ | 9,50 „ |
| N | 13,24 „ | 13,21 „ |

Aus den zurückgebliebenen Mutterlaugen wurden noch zwei Substanzen gewonnen, welche die gleichen Schmelzpunkte besitzen (257 und 256°); die erste war aber in Alkohol fast unlöslich, die zweite dagegen leicht löslich.

*In Alkohol unlösliche Substanz.*

0,1031 g Substanz: 0,2363 g $CO_2$; 0,0569 g $H_2O$.
0,0635 g Substanz: $v$ = 8,2 ccm (21°, 742 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{12}N_2O_2$ | $C_{10}H_{14}N_2O_2$ |
|---|---|---|---|
| C | 62,52 Proz. | 62,50 Proz. | 61,85 Proz. |
| H | 6,18 „ | 6,25 „ | 7,21 „ |
| N | 14,34 „ | 14,58 „ | 14,43 „ |

Die Analysen stimmen besser für ein dehydrogenisiertes Prolyl-anhydrid als auf Prolin-anhydrid. Der Substanz könnte man demnach folgende Struktur zuschreiben:

```
    CH—CH—CO—N——CH2
   /    |       |     \
HC<     |       |      >CH2.
   \    |       |     /
    CH2—N——CO—CH—CH2
```

*In Alkohol lösliche Substanz.*

0,0854 g Substanz: 0,1982 g $CO_2$; 0,0485 g $H_2O$.
0,0839 g Substanz: $v$ = 9,5 ccm (20°, 749 mm).

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{16}N_2O_2$ | $C_{12}H_{22}N_2O_2$ |
|---|---|---|---|
| C | 63,28 Proz. | 63,46 Proz. | 63,66 Proz. |
| H | 6,35 „ | 7,70 „ | 9,80 „ |
| N | 12,76 „ | 13,41 „ | 12,39 „ |

Die Substanz ist nicht einheitlich. Die Analyse stimmt am besten mit Methyl-prolyl-prolin-anhydrid überein, dem wahrscheinlich etwas wasserstoffreicheres Leucin-anhydrid beigemengt ist. Die Trennung dieser Anhydride konnte wegen des Mangels an Material nicht unternommen werden.

Außer den oben beschriebenen Fraktionen aus dem Anteil B des Ätherauszugs wurden aus dem zurückgebliebenen Sirup beim längeren Aufbewahren desselben noch mehrere kleinere Kristallisationen abgeschieden, über deren Natur wir nur behaupten können, daß sie ebenfalls anhydridartige Körper sind. Manche von ihnen wurden analysiert, aber die Analysen gaben keine sicheren Anhaltspunkte für die Beurteilung ihrer eigentlichen Zusammensetzung, da die möglichst streng gereinigten Fraktionen sich doch als Gemenge verschiedener Anhydride herausstellten; die geringen Ausbeuten erlaubten keine weiteren Behandlungen und Spaltungsversuche. Manche

andere Fraktionen waren trotz vieler Bemühungen nicht blendend weiß zu erhalten, sie zeigten auch keine konstanten Schmelzpunkte beim Umkristallisieren. Es ist unbedingt nötig, noch von größerer Menge des Materials auszugehen.

Unter den oben angeführten analysierten Peptid-anhydriden sind die meisten in ziemlich geringen Mengen vorhanden. Nur eine Fraktion des Ätherauszugs, nämlich mit F. 251°, wird in größerer Ausbeute gewonnen, was uns die Möglichkeit gab, sie durch Spaltungsversuche näher zu studieren. Nachdem sie durch zehnmaliges Umkristallisieren aus Alkohol und Eisessig gereinigt war, hatten wir in unserem Besitze bis 20 g einer blendend weißen, sehr voluminösen Substanz, deren Zusammensetzung auf die des Valylleucin-anhydrids gut übereinstimmte. Die Spaltung wurde auf zweifache Weise ausgeführt, nämlich in einem Versuche mittels kalter konzentrierter HCl, im zweiten Versuche unter Erwärmen auf dem Wasserbade ebenfalls mit konzentrierter HCl (1,19).

### Hydrolyse des Anhydrids F. 251° aus dem Ätherauszug.

*Versuch 1.* 10 g des Anhydrids wurden in 250 ccm HCl gelöst und die Lösung bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösung färbt sich zuerst schön himbeerrot; aber bei längerem Aufbewahren (etwa nach 12 Stunden) verblaßt die rote Farbe und die Lösung wird braun. Nimmt man von Zeit zu Zeit eine kleine Probe der Lösung, so erhält man im Laufe der ersten 4 Tage einen voluminösen Niederschlag beim Verdünnen mit Wasser; später wird die Fällung mit Wasser immer geringer und endlich wird nur eine unbedeutende Trübung beobachtet. Die gesamte Lösung wird nun 18 Stunden lang auf dem siedenden Wasserbade erwärmt. Man erhält eine strohgelbe Flüssigkeit, welche einen eigenartigen angebrannten Geruch besitzt; er erinnert an die Gerüche, welche man bei der Hydrolyse der Cellulose wahrnimmt. Die Flüssigkeit wurde mit großem Überschusse von Wasser verdünnt und von geringen braunen Flocken und harzartigen Beimengungen abfiltriert; schließlich wurde sie unter vermindertem Drucke bei Wasserbadsiedetemperatur abgedampft. Man erhielt einen grauen kristallinischen Rückstand; dieser wurde nochmals in Wasser gelöst, filtriert und abgedampft. Der trockene Rückstand wurde in einen Vakuumexsikkator über Natronkalk gestellt, um die überschüssige HCl zu entfernen. Schließlich wurde der Rückstand in 500 ccm Wasser gelöst und die Lösung mit frisch gefälltem Silberoxyd unter mäßigem Erwärmen und Schütteln verarbeitet; das Filtrat von AgCl wird mit $H_2S$ behandelt und eingeengt. Man bekommt eine Reihe von Kristallisationen.

1. Eine in Wasser schwer lösliche (2 g);
2. die nächstfolgende (3 g);
3. leicht lösliche (2,5 g);
4. sirupartiger Anteil, welcher sich teilweise auskristallisieren ließ.

Sämtliche Fraktionen reagieren auf Aminosäuren positiv.

*Erste Fraktion.* Nach dem Umkristallisieren aus 50proz. Alkohol erhält man eine rein weiße Substanz mit seidenglänzendem Schimmer und mit F. 296°.

7,951 mg der Substanz: $v$ = 0,77 ccm (19°, 756 mm); N = 10,70 Proz.
Berechnet für Leucin: N = 10,68 „

*Zweite Fraktion.* Sie zeigt nach dem Umkristallisieren F. 295°.
4,194 mg: $v = 0{,}413$ ccm (18°, 750 mm); N = 10,86 Proz.
Die daraus dargestellte und umkristallisierte Kupferverbindung wurde analysiert.
0,1888 g gaben 0,0457 g CuO; Cu = 19,28 Proz.
Berechnet für Leucinkupfer: Cu = 19,50 „

*Dritte Fraktion.* Sie hatte nach der Reinigung F. 287°.
3,665 mg: $v = 0{,}344$ ccm (19°, 759 mm); N = 10,96 Proz.

0,2059 g der Kupferverbindung gaben bei der Elektrolyse aus schwefelsaurer Lösung Cu = 0,041 g bzw. 19,91 Proz. Cu. Es handelt sich wiederum um Leucin.

*Vierte Fraktion.* Sie zeigt F. 252° und wird durch Kristallisation aus dem sirupartigen Anteile gewonnen.
9,018 mg: $v = 0{,}939$ ccm (17°, 759 mm); N = 11,63 Proz.
7,090 mg: $v = 0{,}762$ ccm (17°, 758 mm); N = 11,99 „
Berechnet für Valin: N = 11,96 „

*Fünfte Fraktion* (Sirup). Sie wurde in Wasser gelöst und mit $Cu(OH)_2$ gekocht. Das bläulich-grüne Filtrat wird abgedampft, getrocknet und mit Methylalkohol behandelt. Man erhält dabei zwei Fraktionen:

a) eine in Methyl-, Äthyl- und Benzylalkohol lösliche;
b) eine in Methylalkohol unlösliche.

*Fraktion a der Kupferverbindung.*
0,2711 g: 0,0664 g CuO; Cu = 19,55 Proz.
Berechnet auf Isoleucin: Cu = 19,50 Proz.

*Fraktion b der Kupferverbindung.*
0,1066 g: 0,0315 g CuO; Cu = 23,64 Proz.

Nach Zerlegung mit $H_2S$.
4,553 mg: $v = 0{,}408$ ccm (20°, 750 mm); N = 10,30 Proz.
Berechnet für Butalaninkupfer: Cu = 23,50 Proz.
Berechnet für Butalanin: N = 10,46 Proz.

Wir begegnen in dieser Fraktion also: Iso-leucin und Butalanin.

Aus den Mutterlaugen der kristallinischen Kupferverbindung der Fraktion b kann noch ein grünes Kupfersalz abgeschieden werden, welches in Aceton löslich ist. Die Acetonlösung wird abgedampft und der Rückstand in Methylalkohol aufgenommen. Da die Verbindung nicht auskristallisierte, wurde die alkoholische Lösung in vacuo abgedampft und bis zu konstantem Gewicht getrocknet. Die Substanz war sehr hygroskopisch.

Beim Verbrennen entwickelt sie einen charakteristischen Geruch, welcher an frisches Gras erinnert.

0,1497 g der Kupferverbindung; 0,0293 g CuO; Cu = 15,71 Proz.
9,707 mg: $v = 0{,}729$ ccm (20°, 753 mm); N = 8,66 Proz.
8,656 mg: $v = 0{,}666$ ccm (21°, 751 mm); N = 8,81 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{36}H_{72}N_5O_8Cu_2$ |
|---|---|---|
| Cu . . . . . . . . | 15,71 Proz. | 15,21 Proz. |
| N . . . . . . . . | 8,73 „ | 8,45 „ |

Diese Substanz tritt in sehr geringen Mengen auf; vielleicht ist sie ein Nebenprodukt, das sich bei der Einwirkung der HCl auf das Anhydrid bzw. auf daraus entstehende Aminosäuren bildet; man kann die Substanz

aber auch als ein Derivat irgend einer Beimengung im Anhydrid selbst betrachten.

Der Versuch lehrt, daß trotz mühevoller Reinigung das Anhydrid mit F. 251° nicht ganz einheitlich war. Außer Valyl-leucin-anhydrid enthält es als eine kleine Beimengung noch Isoleucyl-butalanin-anhydrid bzw. ähnlich konstituierte Anhydride, welche durch Kombinationen von Leucin, Isoleucin, Valin und Butalanin entstehen können.

*Versuch 2.* 5 g des Anhydrids wurden in 50 ccm HCl (1,19) gelöst. Die Lösung ist himbeerrot. Nach 24 stündigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur zeigte eine Probe der Lösung noch keine Ninhydrinreaktion; sie gab beim Verdünnen mit Wasser eine Fällung. Nach 48 Stunden wird die Ninhydrinreaktion positiv; Wasser ruft noch eine Fällung hervor. Nun wurden noch 50 ccm HCl hinzugefügt. Nach 24 Stunden wird jetzt in einer Probe keine Fällung mit Wasser beobachtet. Die gesamte, jetzt braune Lösung wird mit viel Wasser verdünnt, die Lösung filtriert und in vacuo bei 40° bis zum Sirup eingeengt. Behandelt man den Sirup wieder mit Wasser, so scheidet sich eine in Wasser unlösliche Substanz aus, welche ausgewaschen und aus Alkohol umkristallisiert wird. Sie ist ninhydrinnegativ und hat einen viel höheren Schmelzpunkt als das ursprüngliche Anhydrid; nämlich 282° anstatt 251°.

0,2244 g Substanz: 0,4675 g $CO_2$; 0,1481 g $H_2O$.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{18}H_{28}N_4O_5$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 56,82 Proz. | 56,84 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 7,33 „ | 7,37 „ |

Das wässerige Filtrat von dieser Fällung wurde in vacuo abgedampft, der Rückstand wieder in Wasser gelöst und die vorhandene HCl mit Silberoxyd entfernt usw. Schließlich wurde die Lösung mit $Cu(OH)_2$ gekocht und die blaue Flüssigkeit eingeengt. Die gewonnene, gereinigte Kupferverbindung wurde analysiert.

0,1496 g: $v$ = 16,2 ccm (18,2°, 742 mm); N = 12,19 Proz.
9,957 mg: $v$ = 1,15 ccm (26°, 756 mm); N = 11,86 Proz.
0,1943 g: 0,0523 g CuO; Cu = 21,46 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet auf Valinkupfer |
|---|---|---|
| N . . . . . . . . | 12,01 Proz. | 11,96 Proz. |
| Cu . . . . . . . . | 21,46 „ | 21,69 „ |

Es ist auffallend, daß bei dieser Art partieller Spaltung des Anhydrids außer Valin keine andere Aminosäure gefunden werden konnte; es fehlt nämlich Leucin, welches bei der totalen Hydrolyse des Anhydrids (Versuch 1) reichlich vorhanden war. Es bleibt nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß Leucin im anhydridartigen Körper mit F. 282° auf irgendwelche Weise gebunden ist.

In den Mutterlaugen von Valinkupfer befindet sich eine grüne Kupferverbindung, welche in Methylalkohol gut löslich ist. Die Substanz ist nur in geringer Menge vorhanden; sie ist amorph und hygroskopisch.

16,570 mg: $v$ = 1,494 ccm (20°, 768 mm); N = 10,66 Proz.
9,072 mg: $v$ = 0,810 ccm (25°, 771 mm); N = 10,42 Proz.
12,800 mg: 19,722 mg $CO_2$; 7,676 mg $H_2O$; C = 42,13 Proz.; H = 6,67 Proz.
11,504 mg: 17,702 mg $CO_2$; 6,938 mg $H_2O$; C = 41,96 Proz.; H = 6,70 Proz.
0,1547 g: 0,0247 g CuO; Cu = 12,73 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{17}H_{30}N_4O_7Cu.H_2O$ | $C_{18}H_{30}N_4O_8Cu.H_2O$ |
|---|---|---|---|
| C . . . | 42,05 Proz. | 42,23 Proz. | 43,05 Proz. |
| H . . . | 6,69 „ | 6,63 „ | 6,26 „ |
| N . . | 10,54 „ | 11,59 „ | 10,96 „ |
| Cu . . | 12,73 „ | 13,04 „ | 12,32 „ |

Die Substanz ist das Kupfersalz einer Dicarbonsäure, $C_{17}H_{32}N_4O_7$ (eventuell $C_{18}H_{32}N_4O_8$); sie entsteht wahrscheinlich aus dem anhydridartigen Körper mit F. 282°, $C_{18}H_{28}N_4O_5$, welcher durch Kondensation von zwei Peptinringen (Diketopiperazinringen) des Valyl-leucin-anhydrids gebildet wird.

Die Struktur solcher Dipeptin-dicarbonsäuren kann man sich folgendermaßen vorstellen:

```
      NH2 HOOC—CH—C3H7                    NH2 HOOC—CH.C3H7
       |        |                          |        |
 OH·C———CO———NH                      OH.C———CO———NH
       |                  bzw.             |
 C4H9.C———CO———NH                    C4H9.C———CO———NH
       |        |                          |        |
      NH2 HOOC—CH.C2H5                    NH2 HOOC—C(OH).C3H7
       C17H32N4O7                           C18H32N4O8
```

Die anhydridischen Vorstufen dieser Aminosäuren werden also sein:

```
        NH—CO—CH.C3H7                   NH—CO—CH.C3H7
        |       |                       |       |
   OH.C——CO—NH                     OH.C——CO—NH
        |                               |
   C4H9.C——CO—NH                   C4H9.C——CO—NH
        |       |                       |       |
        NH—CO—CH.C2H5                   NH—CO—C(OH).C3H7
         C17H28N4O5                      C18H30N4O6
```

Diese Vorstufe unterscheidet sich jedoch nach der Zusammensetzung von dem Anhydrid: $C_{18}H_{28}N_4O_5$ mit F. 282°. Wenn wir als richtigere die zweite Formel $C_{18}H_{30}N_4O_6$ betrachten, so wird es uns möglich, das Anhydrid $C_{18}H_{28}N_4O_5$ aus dem Anhydrid $C_{18}H_{30}N_4O_6$ abzuleiten.

Das Anhydrid $C_{18}H_{30}N_4O_6$ kann aus dem Anhydrid $C_{18}H_{28}N_4O_5$ durch Spaltung einer Ringbindung und Oxydation entstehen. Dem Anhydrid $C_{18}H_{28}N_4O_5$ könnte man folgende Struktur zuschreiben:

```
        NH—CO—CHC3H7
        |      |
   OH.C——CO—N
        |      |
   C4H9.C——CO—N
        |      |
        NH—CO—CH.C3H7
```

Versuch 2 hat uns gelehrt, daß bei der Einwirkung von konzentrierter HCl bei Zimmertemperatur auf das Anhydrid von der Zusammensetzung eines Valyl-leucin-anhydrids $C_{11}H_{20}N_2O_2$ (welches nur eine unbedeutende Beimengung etwa eines Isoleucyl-butalanin-anhydrids enthält) keine zu erwartende Spaltung bis zur Stufe eines Dipeptids (Valyl-leucins) oder bis zu Aminosäuren (Leucin, Valin) zustande kommt, sondern eine *Kondensation von zwei Peptinringen* und die Bildung eines **Dipeptins** stattfindet. Bei andauernder Einwirkung von HCl verwandelt sich das Dipeptin in die oben erwähnte Dipeptin-dicarbonsäure. Eine Kondensation von zwei

Molekülen des Valyl-leucin-anhydrids wird aber von der Abspaltung einer Butylgruppe begleitet, welche wahrscheinlich zu Buttersäure oxydiert wird. Nicht gereinigtes, rohes Anhydrid, $C_{18}H_{28}N_4O_5$, mit F. 282° besitzt einen merklichen Geruch nach Buttersäure.

Der Vorgang verläuft folgendermaßen:

$$C_{11}H_{20}N_2O_2 + C_{11}H_{20}N_2O_2 + 5\,O \longrightarrow C_{18}H_{28}N_4O_5 + C_4H_8O_2 + 2\,H_2O.$$

Die Tatsache, daß bei den Bedingungen einer „partiellen Hydrolyse" anstatt Spaltung des Peptidanhydrids eine Kondensation eintritt, und daß die gebildeten Dipeptine (eventuell Polypeptine) sich zu sehr komplizierten Dipeptin- bzw. Polypeptin-carbonsäuren oxydieren, welche *grüne Kupfersalze* bilden, muß man auch bei hydrolytischen Spaltungen der Eiweißstoffe berücksichtigen. Auch bei „totaler Hydrolyse", wie sie beim Versuch 1 ausgeführt wurde, konnte man, allerdings in winzigen Mengen, das Vorhandensein von Kondensationsprodukten beobachten. Das Produkt $C_{36}H_{76}N_8O_8$, welches ein grünes Kupfersalz liefert, ist höchstwahrscheinlich ein Derivat einer Tetrapeptintetracarbonsäure.

### Hydrolyse des übriggebliebenen Sirups aus dem Ätherextrakte.

Nach der Abscheidung der oben beschriebenen Peptinkörper aus der Fraktion B bleibt ein nicht unbeträchtlicher Anteil in sirupösem Zustande übrig. Trotz mannigfaltiger Bemühungen konnte der Sirup nicht zur Kristallisation gebracht werden. Da er keine Reaktionen auf freie Aminosäuren anzeigt und demnach aus Anhydriden besteht, wurde er gespalten.

Der Sirup wurde in konzentrierter HCl (1,19) gelöst und 3 Stunden lang gekocht. Das Hydrolysat wurde abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung mit Silberoxyd behandelt usw. Die Lösung gibt Reaktionen auf Aminosäuren, ist millonpositiv und reduziert eine Silbernitratlösung. Nun wird die Lösung eingeengt und mit Alkohol behandelt. Der in Alkohol unlösliche Anteil (A) zeigt keine Millonreaktion und reduziert nicht $AgNO_3$; die Ninhydrinreaktion ist positiv, mit Phosphorwolframsäure entsteht keine Fällung. Der in Alkohol lösliche Anteil (B) gibt eine intensive Millonreaktion.

*Teil A.* Die Fraktion wurde in Wasser gelöst und ein Kupfersalz bereitet, welches sich als *Leucinkupfer* erwies (Cu = 19,61 Proz.).

*Teil B.* Die Hauptmenge des Hydrolysats war in Alkohol löslich. Die alkoholische Lösung wurde abgedampft, der Rückstand bei 110° getrocknet und mit Eisessig behandelt, um Tyrosin abzutrennen. Aber alles ging in Eisessig über. Verdünnt man die Lösung mit Wasser und dampft sie bis zur Trockne ein, so zeigt der Rückstand eine intensive Millonreaktion. Nach Behandlung mit Alkohol ist ein Teil des Rückstandes darin unlöslich und zeigt keine Millonreaktion; ein daraus dargestelltes Kupfersalz zeigte *Leucin* an.

Das alkoholische, millonpositive Filtrat wird abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und die wässerige Lösung mit Äther extrahiert. Im ätherischen Auszuge befinden sich weiße, in kaltem Wasser unlösliche Kristalle, welche in Alkohol und in heißem Wasser löslich sind. Sie sind ninhydrin- und millonpositiv und sind Peptidanhydride.

Durch Kristallisation aus heißem Wasser wurden zwei Körper isoliert, mit F. 239° und mit F. 201°. Das Anhydrid mit F. 239° enthält 13,49 Proz. N, was für Leucyl-valin-anhydrid stimmen könnte.

0,0707 g: $v$ = 8,5 ccm (18°, 739 mm); N = 13,49 Proz. (berechnet: N = 13,21 Proz.).

Das Anhydrid mit F. 201° enthält 13,86 Proz. N.

0,0807 g: $v$ = 9,9 ccm (19°, 747 mm).

Zieht man den niedrigen Schmelzpunkt und die hohe Resistenz gegen siedende konzentrierte HCl in Betracht, so erscheint es wahrscheinlich, daß wir es hier mit einem Kondensationsprodukt des Peptins bzw. mit irgend einem präformierten Dipeptin zu tun haben. Die sehr geringe Menge der Fraktionen erlaubte eine nähere Verfolgung der Frage nicht. Die ausgeätherte millonpositive Lösung wurde mit $Cu(OH)_2$ gekocht und ein Kupfersalz gewonnen, welches sich als *Alaninkupfer* erwies. (Gefunden: 26,33 Proz. Cu. Berechnet: 26,36 Proz. Cu.)

Aus der Mutterlauge von Alaninkupfer wurde ein *grünes* Kupfersalz isoliert, welches gut in Alkohol löslich ist. Zerlegt man die wässerige Lösung desselben mit $H_2S$, so bekommt man eine Lösung, welche intensive *Millon*sche Reaktion zeigt und $AgNO_3$ reduziert, aber keine Ninhydrinreaktion gibt; beim Kochen mit KOH entwickelt sich kein Ammoniak.

Nach dem Abdampfen der Lösung bleibt ein Sirup zurück, welcher sich nicht auskristallisieren läßt. Der Sirup wurde in konzentrierter HCl gelöst und 12 Stunden gekocht. Nach dem Entfernen von HCl und Behandlung mit Eisessig ist es nicht gelungen, Tyrosin abzuscheiden, obwohl die Lösung intensive *Millon*sche Reaktion zeigte. Wahrscheinlich wurde diese durch die Gegenwart irgend eines Phenolderivates bedingt, da die tyrosinhaltigen Peptine durch wiederholtes und andauerndes Kochen mit konzentrierter HCl sicher gespalten würden.

Bei der Hydrolyse des Sirups aus dem Ätherauszuge haben wir also folgende Körper gefunden:

1. ein Peptin, welches wahrscheinlich Valyl-leucin-anhydrid ist,
2. ein Dipeptin mit F. 201° von unbekannter Zusammensetzung,
3. Aminosäuren: Leucin und Alanin, was für die Gegenwart von Leucyl-alanin-anhydrid im Sirup spricht,
4. einen phenolartigen Körper, welcher dieselben Reaktionen wie Tyrosin zeigt; Tyrosin selbst ist aber nicht vorhanden.

Es ist auffallend, daß die Anhydride nach dem Kochen des Sirups mit konzentrierter HCl, obwohl in kleinen Mengen, doch anwesend waren, was in der Weise gedeutet werden kann, daß sie von komplizierteren und sehr resistenten zyklischen Komplexen stammen.

### Untersuchungen des Essigätherextraktes des Katalysats.

Im Essigätherauszug häufen sich beträchtliche Mengen (bis 250 g) von sirupösen Substanzen an. Nach dem Abdampfen des Essigäthers bleibt ein Sirup, welcher in heißem Methylalkohol aufgenommen wurde. Beim Erkalten der alkoholischen Lösung scheidet sich eine weiße, kristallinische Substanz aus. Sie ist in heißem Wasser und in Alkohol löslich, ist ninhydrinnegativ und millonpositiv. Nach der Spaltung mit n/4 HCl treten die Aminosäurenreaktionen hervor.

Das Anhydrid besitzt F. 272°. Es wurde mehrmals aus siedendem Eisessig umkristallisiert.

0,2390 g: 0,5659 g $CO_2$; 0,1273 g $H_2O$; C = 64,97 Proz.; H = 5,92 Proz.

0,1800 g: 0,4472 g $CO_2$; 0,1031 g $H_2O$; C = 64,99 Proz.; H = 6,09 Proz.

0,1607 g: $v$ = 19,2 ccm (17°, 753 mm); N = 13,77 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{12}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 64,98 Proz. | 64,67 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 6,01 „ | 5,92 „ |
| N . . . . . . . . . | 13,77 „ | 13,73 „ |

Die Substanz stimmt mit *Phenylalanyl-glycin-anhydrid* überein. Das synthetische Anhydrid hat F. 273°.

### Spaltung des Anhydrids.

Das Anhydrid wurde in konzentrierter HCl gelöst und die Lösung 6 Stunden lang auf dem siedenden Wasserbade erwärmt. Das Hydrolysat wurde in vacuo eingedampft; der kristallinische Rückstand in Wasser gelöst und die Lösung mit Silberoxyd behandelt usw. Bei der Behandlung mit $H_2S$ bleibt ein Teil des Silbersulfids kolloidal gelöst; er wurde mit kolloidaler Eisenhydroxydlösung niedergeschlagen, welche beim Erwärmen koaguliert und kolloidal gelöstes Silbersulfid mitreißt. Die gereinigte Lösung zeigt Ninhydrin- und Millonreaktionen.

Nach dem Abdampfen bleibt ein kristallinischer Rückstand, welcher mit Äthylalkohol behandelt wurde. In die alkoholische Lösung geht nur sehr wenig Substanz über; dieselbe ist ninhydrin- und millonpositiv und wird nicht mit Phosphorwolframsäure gefällt; sie hat F. 229°. Näher ist sie nicht untersucht worden.

Die Hauptmenge des Rückstandes ist in Alkohol unlöslich; sie ist millonpositiv, mit Phosphorwolframsäure nicht fällbar und hat F. 230°. Sie wurde mit Eisessig behandelt; ein Teil derselben bleibt im Eisessig ungelöst. Diese Substanz ist nur in siedendem Wasser löslich, gibt sämtliche Reaktionen auf Tyrosin und hat F. 280°. Die gewonnenen Mengen des Tyrosins sind sehr klein.

Der in Eisessig lösliche Anteil des Rückstandes wurde mit viel Wasser verdünnt, die Lösung abgedampft, der trockene Rückstand in Wasser gelöst und die wässerige Lösung mit Äther extrahiert.

In den Äther geht eine kristallinische ninhydrinnegative Substanz über, welche auch millonnegativ ist und nach dem Umkristallisieren aus Wasser F. 249° zeigt. Das Anhydrid ist verschieden von dem gespaltenen Ausgangsanhydrid. Der kleinen Menge wegen konnte es nicht näher untersucht werden. Es blieb unentschieden, ob das Anhydrid F. 249° ein Kondensationsprodukt (etwa ein Dipeptinderivat) ist oder ob es im Phenylalanyl-glycin-anhydrid in geringer Menge vorhanden war.

Die mit Äther erschöpfte Lösung gab *Millon*sche Reaktion. Die Lösung bräunt sich beim Einengen. Sie wurde mit $Cu(OH)_2$ gekocht und das gewonnene Kupfersalz durch Kristallisation gereinigt. Nach dem Zersetzen mit $H_2S$ gibt die Substanz eine intensive *Millon*sche Reaktion. Nun wurde sie wieder in ein Kupfersalz verwandelt. Die blaue Flüssigkeit wird bis zum Sirup eingeengt und dieser mit Alkohol behandelt. Dabei scheiden sich kristallinische Massen aus, welche abgesaugt und umkristallisiert wurden. Sie hatten sich als *Glycinkupfer* erwiesen.

0,1229 g: 0,0474 g CuO; Cu = 29,78 Proz.
(berechnet: Cu = 29,86 Proz.).

Aus den Mutterlaugen wurde ein Kupfersalz gewonnen, welches *Phenylalanin-kupfer* ist.

0,1619 g: 0,0341 g CuO; Cu = 16,83 Proz.
(berechnet: Cu = 16,28 Proz.).

Die Ergebnisse des Spaltungsversuches des Anhydrids aus dem Essigätherextrakt zeigen, daß dem Phenylalanin-glycin-anhydrid etwas Tyrosylglycin-anhydrid beigemengt war.

### Untersuchung des Sirups aus dem Essigätherextrakt.

Der Sirup enthält freie Aminosäuren. Er wurde in Alkohol gelöst. Beim Aufbewahren der Lösung scheidet sich ein kristallinischer Niederschlag ab. Er wurde abgetrennt und mit siedendem Methylalkohol erschöpft. *Der in Methylalkohol unlösliche Anteil* wurde zuerst mit kaltem, dann mit heißem Wasser ausgezogen und der übriggebliebene Rest in kochendem Wasser aufgenommen. Beim Erkalten der Lösung scheiden sich Kristalle ab, welche in Eisessig unlöslich sind und sämtliche Reaktionen auf *Tyrosin* geben.

Die in kaltem und heißem Wasser löslichen Anteile wurden zur Darstellung von Kupfersalz benutzt. Man erhält ein lilablaues Salz, welches mit einem Molekül Kristallwasser verbunden ist. Die Substanz ist das Kupfersalz des *d-l-Alanins*. Sie wurde in beträchtlich größeren Ausbeuten erhalten.

I. 0,2188 g (bei 150° getrocknet): 0,0710 g CuO; Cu = 25,92 Proz.
0,1856 g (bei 150° getrocknet): 0,2111 g $CO_2$; 0,0979 g $H_2O$;
C = 30,09 Proz; H = 5,86 Proz.

II. 0,190 g (im Exsikkator getrocknet): 0,0574 g CuO; Cu = 24,05 Proz.
0,1662 g (im Exsikkator getrocknet): 0,1716 g $CO_2$; 0,0974 g $H_2O$;
C = 28,15 Proz.; H = 6,36 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_6H_{12}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| Cu . . . . . . . . | 30,09 Proz. | 30,12 Proz. |
| H. . . . . . . . . | 5,86 ,, | 5,21 ,, |
| Cu . . . . . . . . | 25,92 ,, | 26,36 ,, |

| | Gefunden: | Berechnet: $C_6H_{12}N_2O_4Cu.H_2O$ |
|---|---|---|
| C. . . . . . . . . | 28,15 Proz. | 28,23 Proz. |
| H. . . . . . . . . | 6,36 ,, | 5,44 ,, |
| Cu . . . . . . . . | 24,05 ,, | 24,03 ,, |

*Der in Methylalkohol lösliche Anteil* gab beim Abdampfen des Alkohols einen Sirup, aus dem kristallinische Abscheidungen abgetrennt werden konnten. Sie erwiesen sich als mit $NH_4Cl$ gemengtes *Leucin*, welches in Form eines Kupfersalzes isoliert wurde. Der größte Teil der Fraktion ist ein Sirup, welcher noch eine positive Ninhydrinreaktion, aber keine *Millon*sche Reaktion aufweist.

Der Sirup wird nun in Methylalkohol gelöst und die Lösung mit dem dreifachen Volumen Äther versetzt. Die sirupöse Fällung wird abgetrennt, in Wasser gelöst und mit $Cu(OH)_2$ gekocht. Man erhält eine *grüne* Flüssigkeit, welche nach dem Eindampfen einen grünen, in Alkohol löslichen Sirup liefert. Derselbe wurde in Methylalkohol gelöst und mit großem Überschuß von Äther versetzt. Dabei erfolgt eine Fällung, welche sowohl in Wasser als auch in Alkohol unlöslich ist. Die Substanz ist stickstofffrei. Sie enthält 35,72 Proz. Cu. Nach dem Zerlegen mit $H_2S$ reduziert sie stark eine Chamäleonlösung. Die Analyse und Eigenschaften der betreffenden Substanz stimmen für *Fumarsäure* (berechnet: 35,59 Proz. Cu). Der in Alkoholäther lösliche Anteil des Sirups gibt keine kristallinischen Abscheidungen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der Sirup in Wasser gelöst

und mit $Cu(OH)_2$ gekocht. Man erhält eine grüne Lösung bzw. einen grünen Sirup, welcher in Alkohol löslich ist und aus dieser Lösung teilweise mit Äther gefällt wird. Die Fällung ist kristallinisch und blau gefärbt; sie erwies sich als *Valinkupfer*. Das Filtrat hinterließ nach dem Eindampfen einen grünen Sirup, welcher aus einem Gemenge von komplizierten Verbindungen besteht, vielleicht vom Typus der Dipeptinsäuren.

Im Essigätherextrakte des Katalysats haben wir also freie Aminosäuren gefunden, nämlich *Tyrosin*, *Alanin*, *Leucin* und *Valin*. Die Mengen derselben waren, ausgenommen die des Alanins, nur sehr gering. Die Hauptmasse der Fraktion besteht aus einem sirupartigen Gemenge von Anhydriden bzw. aus deren Derivaten (Dipeptinsäuren), welche der unmittelbaren Untersuchung bisher unzugänglich waren. Bei der Katalyse findet eine Desamidierung statt, was aus der Anwesenheit von $NH_4Cl$ und Fumarsäure (aus Asparaginsäure) hervorgeht.

Um uns über die Natur der Anhydride, die sich in dem von Aminosäuren befreiten Sirup befinden, einigermaßen zu orientieren, haben wir die Hydrolyse des Sirups ausgeführt.

### Hydrolyse des Sirups.

Von Aminosäuren befreiter Sirup wurde in Alkohol gelöst und die Lösung mit Aceton gefällt. Man gewinnt zwei Fraktionen: I. Sirupartige Acetonfällung; II. Alkohol-Acetonlösung. Beide wurden mit konzentrierter HCl 6 Stunden gekocht. Die Hydrolysate zeigen positive Ninhydrin- und Millonreaktionen.

*Acetonfällung.*

Beim Einengen des Hydrolysats scheidet sich eine in Wasser fast unlösliche Substanz mit F. 283° ab, welche millonpositiv ist. Sie hat sich als *Tyrosin* erwiesen.

Beim weiteren Einengen des Filtrats wurde eine Abscheidung erhalten, welche nach vorgenommener Reinigung durch Kristallisation aus Eisessig F. 256° gibt und wieder millonpositiv erscheint. Die Substanz ist in Eisessig löslich, wodurch sie sich von Tyrosin unterscheidet; ebenfalls hat sie einen viel niedrigeren Schmelzpunkt.

0,2258 g: 0,4962 g $CO_2$; 0,1199 g $H_2O$; C = 59,92 Proz.; H = 5,94 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_9H_{11}NO_3$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 59,92 Proz. | 59,67 Proz. |
| H . . . . . . . . | 5,94 „ | 6,07 „ |

Nach ihrer Zusammensetzung scheint die Substanz dem Tyrosin ähnlich zu sein; worauf die abweichenden Eigenschaften der Substanz beruhen, ist noch nicht aufgeklärt, höchstwahrscheinlich spielen hier die geringen Verunreinigungen des Präparats eine Rolle.

Das nach der Abscheidung dieses Körpers zurückbleibende Filtrat gibt beim Abdampfen der von HCl befreiten Lösung wieder einen unkristallisierbaren Sirup (A).

*Alkohol-Acetonlösung.*

Beim Einengen des von HCl befreiten Hydrolysats scheidet sich ein Körper mit F. 254° ab.

0,2321 g: 0,4825 g $CO_2$; 0,1790 g $H_2O$; C = 56,70 Proz.; H = 8,57 Proz.
0,1495 g: $v$ = 13,6 ccm (23°, 751 mm); N = 10,12 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{13}H_{26}N_2O_4$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 56,70 Proz. | 56,93 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 8,57 ,, | 9,49 ,, |
| N . . . . . . . . . | 10,12 ,, | 10,22 ,, |

Die Substanz ist eine Diamino-dicarbonsäure, welche sich durch Spaltung des entsprechenden Anhydrids gebildet hatte. Man könnte sich die Säure (Undeca-methylen-diamino-dicarbonsäure) und das ihr entsprechende Anhydrid etwa folgendermaßen vorstellen:

$$\begin{array}{ccccccccccc} CH_2 & — CH_2 & — CH_2 & — CH & — CH_2 & — CH_2 & — CH_2 & — CH & — CH_2 & — CH_2 & — CH_2 \\ | & & & | & & & & | & & & | \\ COOH & & & H_2N & & & & NH_2 & & & HOOC \end{array}$$

und

$$\begin{array}{ccccccccccc} CH_2 & — CH_3 & — CH_2 & — CH & — CH_2 & — CH_2 & — CH_2 & — CH & — CH_2 & — CH_3 & — CH_2 \\ | & & & | & & & & | & & & | \\ CO & — & — & NH & & & & NH & — & — & OC \end{array}$$

Aus dem Filtrate wurde eine Säure isoliert, welche ein Kupfersalz mit Cu = 22,87 Proz. gibt und *Millon*sche Reaktion zeigt; sie ist sirupartig.

0,2355 g: 21,4 ccm (23,5°, 740 mm); N = 9,94 Proz. (Berechnet für Tyrosin: 7,73 Proz.)

Näher konnte diese Substanz, welche allerdings kein Tyrosin ist, nicht untersucht werden. Die Hauptmasse der Fraktion stellt jedoch ein Sirup dar, welcher nicht faßbar ist (B). Die Sirupe A und B wurden vereinigt, in konzentrierter HCl gelöst und wiederum 12 Stunden lang gekocht. Nach dem Entfernen von HCl zeigt das Hydrolysat eine Ninhydrinreaktion und gibt mit $Cu(OH)_2$ eine blaue Flüssigkeit. Die bei der ersten Hydrolyse intakt gebliebenen, also sehr resistenten Anhydride sind nach der zweiten Hydrolyse unter der Bildung von Aminosäuren gesprengt worden.

### Untersuchung des Hydrolysats vom Essigäthersirup nach der zweiten Hydrolyse.

Nach der Entfernung der HCl wurde das Hydrolysat bis zur Trockne abgedampft und der Rückstand aus Eisessig fraktioniert. Es wurden folgende Kristallisationen erhalten:

I. F. 254°; II. F. 255°; III. F. 256°; IV. F. 266; V. F. 244°; VI. F. 251°; VII. F. 218°.

Jede Fraktion wurde in Kupfersalze verwandelt und dieselben fraktioniert.

Kupfergehalt in den einzelnen Fraktionen.

| Fraktion | Erste Kristallisation Proz. | Zweite Kristallisation Proz. | Dritte Kristallisation Proz. |
|---|---|---|---|
| I . . . . . . . | 20,51 | 21,13 [1]) | — |
| II . . . . . . . | 18,45 | 19,64 [2]) | 21,21 [1]) |
| III . . . . . . . | 18,61 | 18,23 [2]) | — |
| IV . . . . . . . | 19,73 [2]) | 19,64 [2]) | — |
| V . . . . . . . | 18,64 | 22,88 | 21,82 [1]) |
| VI . . . . . . . | 16,04 | 18,74 | 19,09 [1]) |
| VII . . . . . . | 20,73 | 24,06 | 26,82 [3]) |

Die mit [1]) bezeichneten Kupfergehalte entsprechen dem *Valin*; die mit [2]) bezeichneten entsprechen dem *Leucin*; die mit [3]) bezeichneten dem *Alanin*.

Einige von den übrigen Fraktionen wurden nach dem Umkristallisieren näher untersucht.

*Dritte Fraktion.* Erste Kristallisation mit Cu = 18,61 Proz.
0,1251 g: 0,1981 g $CO_2$; 0,0869 g $H_2O$; C = 43,19 Proz.; H = 7,77 Proz.
0,1479 g: $v$ = 12 ccm (22°, 737 mm); N = 8,91 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{12}H_{22}N_2O_5Cu$ | $C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|---|
| C. . . . | 43,19 Proz. | 42,73 Proz. | 44,58 Proz. |
| H. . . . | 7,77 „ | 6,53 „ | 7,43 „ |
| N . . . | 8,91 „ | 8,60 „ | 8,67 „ |
| Cu . . . | 18,61 „ | 18,69 „ | 19,51 „ |

Die Substanz kann als ein verunreinigtes *Leucin* aufgefaßt werden, welchem vielleicht eine Oxydiaminodicarbonsäure beigemengt ist.

*Vierte Fraktion.* Beide Kristallisationen vereinigt und wieder umkristallisiert. Cu = 19,40 Proz.
0,1138 g: 0,2065 g $CO_2$; 0,0747 g $H_2O$; C = 49,50 Proz.; H = 7,34 Proz.
0,1100 g: $v$ = 9,0 ccm (22°, 736 mm); N = 8,97 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{13}H_{22}N_2O_3Cu$ | $C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|---|
| C. . . . | 49,50 Proz. | 49,21 Proz. | 44,58 Proz. |
| H. . . . | 7,34 „ | 6,94 „ | 7,43 „ |
| N . . . | 8,97 „ | 8,83 „ | 8,67 „ |
| Cu . . . | 19,40 „ | 18,87 „ | 19,51 „ |

Die Substanz ist viel eher eine *Diamino-oxy-mono-carbonsäure*, $C_{12}H_{24}N_2O_3$, als Leucin.

*Sechste Fraktion.* Erste Kristallisation: Cu = 16,04 Proz.
0,1280 g: 0,2064 g $CO_2$; 0,0921 g $H_2O$; C = 43,98 Proz.; H = 7,99 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{14}H_{30}N_2O_6Cu$ |
|---|---|---|
| C. . . . . . . . . | 43,98 Proz. | 43,63 Proz. |
| H. . . . . . . . . | 7,99 „ | 7,79 „ |
| Cu . . . . . . . . | 16,04 „ | 16,36 „ |

Die Substanz entspricht einer *Oxyaminoheptylsäure:* $C_7H_{15}NO_3$.

*Siebente Fraktion.* Erste Kristallisation: Cu = 20,73 Proz.
0,2146 g: $v$ = 9,2 ccm (18°, 756 mm); N = 4,93 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{19}NO_5Cu$ |
|---|---|---|
| N . . . . . . . . | 4,93 Proz. | 4,54 Proz. |
| Cu . . . . . . . . | 20,73 „ | 20,45 „ |

Die Substanz ist wahrscheinlich eine höhere Oxyaminodicarbonsäure.

Zweite Kristallisation: Cu = 24,06 Proz. Sie wurde mit $H_2S$ zerlegt.
0,2005 g: 0,3090 g $CO_2$; 0,1379 g $H_2O$; C = 42,03 Proz.; H = 7,64 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{14}H_{32}N_4O_9$ |
|---|---|---|
| C. . . . . . . . . | 42,03 Proz. | 42,00 Proz. |
| H . . . . . . . . | 7,64 „ | 8,00 „ |

Berechnet für $C_{14}H_{28}N_4O_9Cu_2$: Cu = 24,13 Proz.

Die Substanz scheint eine Oxytetraminotetracarbonsäure zu sein. Der mangelnden Stickstoffanalyse wegen läßt sich die Frage nicht endgültig entscheiden.

Die Struktur der Säure und des ihr entsprechenden Anhydrids könnte man sich auf folgende Weise veranschaulichen:

```
NH2        HOOC              NH2        HOOC
 |            |               |            |
HC—CH2—CH2—C—CH2—CH2—C—CH2—CH2—C(HO)
 |            |               |            |
COOH        H2N             COOH         NH2

NH——————————OC               NH——————————OC
 |            |               |            |
CH—CH2—CH2—C—CH2—CH2—C—CH2—CH2—C(HO)
 |            |               |            |
CO——————————HN               CO——————————HN
```

Bei der Spaltung der äußerst resistenten, sirupartigen Anhydride aus den Essigätherextrakten wurden Leucin, Alanin und Valin gefunden und außerdem noch eine Reihe von Oxyaminosäuren, welche noch nicht vollständig aufgeklärt sind, aber vermutungsweise die Konstitution von Diaminooxydodekamethylencarbonsäure, Oxyaminoheptylsäure, Oxyaminoundekamethylendicarbonsäure und Oxytetraminotetracarbonsäure haben.

### Spaltung der sirupartigen Anhydride mittels Bromwasser.

Der in Acetonalkohol lösliche Anteil des Sirups wurde vom Lösungsmittel befreit, in Wasser gelöst und mit Bromwasser bei Zimmertemperatur behandelt. Es bildet sich ein Niederschlag (Fraktion A), welcher von der bromhaltigen Lösung (Fraktion B) abgetrennt, mit Wasser ausgewaschen und aus kochendem Wasser umkristallisiert wurde. Dabei wurden drei Fraktionen erhalten, welche bromfrei sind und Ninhydrin- bzw. Millonreaktionen zeigen.

*Fraktion A.* Jede der drei erhaltenen Fraktionen wurde in Kupfersalze verwandelt. Beim Kochen mit $CuCO_3$ scheiden sich manchmal in siedendem Wasser fast unlösliche Kupfersalze ab, welche auf dem Filter mit überschüssigem $CuCO_3$ verbleiben; sie wurden von $CuCO_3$ auf die Weise getrennt, daß sie in Essigsäure aufgelöst und die Lösung eingeengt wurde. Dabei scheiden sich die Kupfersalze als in schwacher Essigsäure unlösliche Verbindungen aus und können vom Kupferacetat ausgewaschen werden. Diese Fraktion ist als Fraktion 0 bezeichnet. Das blaue Filtrat wird eingeengt und dabei Kristallisationen 1, 2 und 3 erhalten.

Kupfergehalt in verschiedenen Fraktionen A.

| Fraktion | Kristallisationen | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | 1 | 2 | 3 |
| | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. |
| | α | β | | | |
| I . . . . | 15,52 | 17,54 | 15,95 [1]) | 16,40 [2]) | 16,68 [2]) |
| II . . . . | — | — | 18,94 | 22,44 | 14,91 [1]) |
| III . . . . | — | — | 19,76 [3]) | — | — |

Dem Kupfergehalte nach stimmen: [1]) mit Tyrosin, [2]) mit Phenylalanin, [3]) mit Leucin überein. Die Fraktionen sind noch nicht näher untersucht worden.

*Fraktion B.* Das Filtrat vom Bromniederschlag gab beim Abdampfen einen unkristallisierbaren Sirup, welcher mit 25proz. $H_2SO_4$ bei sechsstündigem Kochen gespalten wurde. Nach dem Entfernen von $H_2SO_4$

wurde die Lösung mit $CuCO_3$ behandelt: Eine blaue Flüssigkeit gab beim Einengen eine Reihe von Fraktionen der Kupfersalze mit folgendem Kupfergehalt:

| Kristallisation | Kupfergehalt Proz. | |
|---|---|---|
| 1 | 20,35 | |
| 2 | 26,33 | (Alanin) |
| 3 | 21,65 | (Valin) |
| 4 | 24,67 | |
| 5 | 19,83 | (Leucin) |
| 6 | 22,83 | |
| 7 | 27,40 | |
| 8 | 25,28 | |
| 9 | 16,52<br>16,65 | (Phenyl-alanin) |

Einige von diesen Fraktionen wurden näher untersucht.

*Fraktion 1:* Cu = 20,35 Proz.

0,1818 g: 0,2858 g $CO_2$; 0,1040 g $H_2O$; C = 42,87 Proz.; H = 6,35 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 42,87 Proz. | 42,99 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 6,35 „ | 6,51 „ |
| Cu . . . . . . . . | 20,35 „ | 20,52 „ |

Es ließ sich nicht entscheiden, ob die Substanz eine Diaminodicarbonsäure ist, oder vielleicht ein Gemisch von Valin und Leucin.

*Fraktion 2:* Cu = 26,33 Proz.

0,1856 g: 0,2064 g $CO_2$; 0,0840 g $H_2O$; C = 30,33 Proz.; H = 5,03 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_6H_{12}N_2O_4Cu$ (Alanin) |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 30,33 Proz. | 30,12 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 5,03 „ | 5,21 „ |
| Cu . . . . . . . . | 26,33 „ | 26,36 „ |

Die Substanz ist Alaninkupfer.

*Fraktion 4:* Cu = 24,67 Proz.

0,2457 g: 0,2975 g $CO_2$; 0,1090 g $H_2O$; C = 33,02 Proz.; H = 5,18 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_7H_{12}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 33,02 Proz. | 33,46 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 5,18 „ | 5,18 „ |
| Cu . . . . . . . . | 24,67 „ | 25,10 „ |

Die Substanz stimmt mit Diaminopimelinsäure überein.

Ihr könnte folgende anhydridische Vorstufe zugrunde liegen:

```
H2C——CH2——CH2——CH——CH.NH2
 |                |         |
COOH            H2N       COOH

CH2——CH2——CH2——CH——CH.NH2
 |                |         |
CO——————————HN        COOH  ,
```

welche mit irgend einer Aminosäure, z. B. Alanin, in einen bizyklischen Komplex verknüpft wird.

```
                           NH—CO
                           |   |
CH₂—CH₂—CH₂—CH—CH  CH.CH₃
|                   |     |   |
CO—————— HN   CO—NH
```

*Fraktion 7:* Cu = 27,40 Proz.

0,2200 g: 0,2350 g $CO_2$; 0,0834 g $H_2O$; C = 29,13 Proz.; H = 4,21 Proz.

| | Gefunden: | | Berechnet: $C_{11}H_{18}N_4O_8Cu_2$ |
|---|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 29,13 Proz. | | 28,69 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 4,21 „ | | 4,35 „ |
| Cu . . . . . . . . | 27,40 „ | | 27,39 „ |
| N . . . . . . . . . | 11,96 „ | *(Kjeldahl)* | 12,17 „ |

Wir haben hier eine Tetraminotetracarbonsäure.

Die Säure $C_{11}H_{22}N_4O_8$ kann man sich folgendermaßen vorstellen:

```
NH₂              COOH           NH₂
|                 |               |
CH—CH₂—CH₂—C—CH₂—CH₂—CH
|                 |               |
COOH            H₂N            COOH
```

Sie dürfte eine anhydridische Vorstufe haben:

```
NH——————   CO              NH₂
|                 |               |
CH—CH₂—CH₂—C—CH₂—CH₂—CH
|                 |               |
CO——————  —HN             COOH,
```

welche mit einer Aminosäure zum Anhydrid verknüpft sein könnte, z. B. mit Alanin:

```
NH———————————CO          NH—CO
|                 |           |   |
CH—CH₂—CH₂—C—CH₂—CH₂—CH  CH.CH₃
|                 |           |   |
CO———   ———HN           CO—NH
```

*Fraktion 8:* Cu = 25,28 Proz.

0,2854 g: 0,2952 g $CO_2$; 0,1172 g $H_2O$; C = 28,21 Proz.; H = 4,56 Proz.

| | Gefunden: | | Berechnet: $C_6H_{10}N_2O_5Cu$ |
|---|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 28,21 Proz. | | 28,41 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 4,56 „ | | 3,95 „ |
| Cu . . . . . . . . | 25,28 „ | | 24,90 „ |
| N . . . . . . . . . | 10,68 „ | *(Kjeldahl)* | 11,06 „ |

Die Substanz scheint mit Diaminooxyadipinsäure übereinzustimmen. Als ihre Vorstufe könnte folgende Verbindung gelten:

```
NH————  ———OC
|                 |
CH—CH₂—CH₂—C(OH)
|                 |
COOH             NH₂,
```

welche mit einer Aminosäure zum Anhydrid verknüpft werden könnte:

```
NH—————————————OC
|               |
CH——CH2——CH2——C(OH)·
|               |
CO—NH—CH—CO—HN
       |
       CH3
```

*Fraktion 9:* Cu = 16,65 Proz.

0,2330 g: 0,3428 g $CO_2$; 0,1224 g $H_2O$; C = 40,12 Proz.; H = 5,82 Proz.

| | Gefunden: | | Berechnet: $C_{13}H_{22}NO_8Cu$ |
|---|---|---|---|
| C | 40,12 Proz. | | 40,62 Proz. |
| H | 5,82 „ | | 5,99 „ |
| N | 3,89 „ | (*Kjeldahl*) | 3,65 „ |
| Cu | 16,65 „ | | 16,40 „ |

Diese Substanz ist wahrscheinlich eine Tetraoxyaminosäure, $C_{13}H_{24}NO_8$.

Die Brommethode hatte sich als gut geeignet erwiesen, um komplizierte Anhydride des Sirups zu sprengen. Dabei beobachtete man keine Additions- oder Substitutionsprodukte, und die entstandenen Aminosäuren enthielten kein Brom. Man konnte unmittelbar Leucin, Tyrosin und Phenylalanin nachweisen, welche ursprünglich wahrscheinlich in Form von Tyrosylleucinanhydrid und Phenylalanyl-leucinanhydrid vorhanden waren. Ein anderer Teil der sirupartigen Anhydride konnte mit Bromwasser allein jedoch nicht gesprengt werden. Nach der Hydrolyse kommt man aber zu besser definierbaren Produkten, als es ohne Bromvorbehandlung der Fall ist. Hier beobachtet man keine komplizierteren Verbindungen vom Typus der Di- bzw. Poly-peptinsäuren, welche dadurch gekennzeichnet sind, daß sie *grüne* Kupfersalze bilden, welche nun kaum bis zu den Aminosäuren gespalten werden können. Brom scheint einen anderen Weg der Spaltung zu veranlassen, und nach der Hydrolyse erhalten wir anstatt Peptinsäuren die oben beschriebenen Produkte, nämlich: *Alanin, Valin, Leucin,* ferner *Diaminopimelinsäure,* eine *Tetraminotetracarbonsäure, Diaminooxyadipinsäure* und eine *Tetraoxyaminosäure.* Über diese letzteren Produkte kann man vorläufig kein endgültiges Urteil bilden, denn die geringen Ausbeuten hatten nicht gestattet, sie einer eingehenderen Untersuchung zu unterwerfen.

Betrachtet man aber den Umstand, daß es unmöglich erscheint, eine so eminente Resistenz für reine Diketopiperazinringe anzunehmen, wie es hier der Fall ist, so läßt sich die Herkunft von Alanin, Valin und Leucin nur auf die Weise am besten erklären, daß diese Aminosäuren mit anderen sehr resistenten Komplexen verknüpft sind. Andererseits könnte die Herkunft von oben erwähnten Diaminosäuren aus ihren entsprechenden Anhydriden nur von sehr festen Ringbindungen abgeleitet werden; solche Bindungen haben wir in Piperidinringen. Die oben angegebenen Vorstellungen über die Struktur der Säuren und ihrer Stammanhydride, obwohl sie nur hypothetisch sind, stehen im besten Einklange mit der außerordentlichen Resistenz der sirupartigen Anhydride, welche das Vorhandensein echter und reiner Peptinringe so gut wie ausschließt.

**Untersuchung des Chloroformextraktes des Katalysats.**

Nach dem völligen Erschöpfen des Katalysats mit Äther und Essigäther wurde dasselbe andauernd in einem Extraktionsapparate mit Chloroform ausgezogen: Der Chloroformextrakt hinterläßt nach dem Abdampfen weiße Kristallmassen und Sirup, welche keine Ninhydrinreaktion geben. Die Kristalle (Fraktion 1) wurden abgesaugt und mit Alkohol gewaschen. Das Filtrat wurde in Chloroform aufgenommen, dabei scheidet sich noch eine Fraktion (2) ab. Die Chloroformlösung wird nun mit Wasser ausgeschüttelt; der in Wasser lösliche Anteil bildet Fraktion 3, und der übrigbleibende, nicht mit Wasser ausschüttelbare Teil des chloroformlöslichen Sirups gibt Fraktion 4. Sämtliche Fraktionen bestehen aus Anhydriden, welche bei einer Nachspaltung die Aminosäuren liefern.

*Fraktion 1.*

Die Kristalle sind in Wasser schwer löslich. Sie wurden zuerst aus siedendem Wasser und nachher aus siedendem Eisessig umkristallisiert. Das Anhydrid hat F. 272°. Die Spaltung mit HCl gibt Glycin und Phenyl-alanin.

0,1981 g: 0,4713 g $CO_2$; 0,1126 g $H_2O$; C = 65,29 Proz.; H = 6,31 Proz.
0,1651 g: $v$ = 19,8 ccm (19,6°, 747 mm); N = 13,49 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{12}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 65,29 Proz. | 64,67 Proz. |
| H . . . . . . . . | 6,31 „ | 5,92 „ |
| N . . . . . . . . | 13,49 „ | 13,73 „ |

Die Substanz ist sicher *Phenyl-alanyl-glycin-anhydrid*. Synthetisches Phenyl-alanyl-glycin-anhydrid hat F. 272° [*E. Fischer* und *Blank*[1])], während Glycyl-phenyl-alanin-anhydrid nach *E. Fischer* und *Schöller*[2]) einen niedrigeren F. hat, nämlich 265,5°.

*Fraktion 2.*

Die daraus gewonnene Substanz ist ein Anhydrid und hat F. 269°. 0,1674 g: 0,3958 g $CO_2$; 0,0898 g $H_2O$; C = 64,48 Proz.; H = 5,96. Die Substanz ist ebenfalls *Phenyl-alanyl-glycin-anhydrid.*

*Fraktion 3. Wasserlöslicher Teil des Sirups.*

Nach dem Abdampfen des Wassers wurde der Sirup in Alkohol aufgenommen, dabei scheidet sich ein kristallinischer Rückstand aus, der einen deutlichen Geruch nach *Buttersäure* besitzt. Beim Umkristallisieren aus Alkohol bekommt man die Fraktionen 1: F. 240° und 2: F. 225°.

*Anhydrid mit F. 240°.*

0,0988 g: $v$ = 14,6 ccm (22°, 754 mm); N = 16,61 Proz.
Berechnet für *Butalanin-anhydrid:* N = 16,47 Proz.

*Anhydrid mit F. 225.*

0,0857 g: $v$ = 10,9 ccm (14°, 752 mm); N = 14,81 Proz.
Berechnet für *Leucyl-alanin-anhydrid:* N = 15,22 Proz.

Dampft man das alkoholische Filtrat bis zum Sirup ein und behandelt denselben mit Essigäther, so scheidet sich ein Anhydrid aus, welches einen starken Geruch nach Buttersäure aufweist. Nach dem Umkristallisieren verschwindet derselbe; das Anhydrid hat F. 240°.

0,0707 g: $v$ = 10,5 ccm (20°, 742 mm); N = 16,58 Proz.
(*Butalanin-anhydrid.*)

---

[1]) Ann. Chem. u. Phys. **354**, 1, 1907. — [2]) Ebendaselbst **357**, 1, 1907.

### Hydrolyse des zurückbleibenden Sirups.

Die übriggebliebenen Anhydride, welche sich im sirupösen Zustande befinden, werden mit 25proz. $H_2SO_4$ bei 12stündigem Kochen gespalten. Nach dem Entfernen von $H_2SO_4$ und beim Einengen der Lösung wurden folgende Fraktionen erhalten:

1. F. 250°; 2. F. 245°; 3. F. 246°; 4. F. 215°; 5. Sirup.

*Fraktion 1:* F. 250°.

0,2194 g: 0,4024 g $CO_2$; 0,1800 g $H_2O$; C = 50,02 Proz.; H = 9,11 Proz.
Berechnet für $C_5H_{11}NO_2$ (Valin): C = 51,02 Proz; H = 9,40 Proz.
Die Substanz ist etwas verunreinigtes *Valin.*

*Fraktion 2:* F. 245°.

Sie wurde in Kupfersalze übergeführt, welche in folgende Kristallisationen getrennt wurden:

*Fraktion 0* enthält ein Kupfersalz mit Cu = 19,65 Proz. (*Leucin*),
,, *1* ,, ,, ,, ,, Cu = 25,58 ,, (Alanin),
,, *2* ,, ,, ,, ,, Cu = 23,62 ,, (Serin) (in Alkohol löslich).

*Fraktion 0:*

0,1170 g: 0,1922 g $CO_2$; 0,0832 g $H_2O$; C = 44,79 Proz.; H = 7,90 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet für Leucin: |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 44,79 Proz. | 44,58 Proz. |
| H. . . . . . . . | 7,90 ,, | 7,43 ,, |
| Cu . . . . . . . | 19,65 ,, | 19,51 ,, |

*Fraktion 3:* F. 246°.

In Kupfersalze übergeführt; in folgende Kristallisationen getrennt:

*Fraktion 0* mit Cu = 20,55 Proz.
,, *1* ,, Cu = 19,57 ,, (Leucin),
,, *2* ,, Cu = 20,60 ,, (Valin),
,, *3* ,, Cu = 22,20 ,,

*Fraktion 0:* Cu = 20,55 Proz.

0,1675 g: 0,2643 g $CO_2$; 0,1053 g $H_2O$; 0,0434 g CuO.
0,1235 g: $v$ = 10,0 ccm (17°, 748 mm); N = 9,25 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{22}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 43,03 Proz. | 42,71 Proz. |
| H. . . . . . . . | 7,03 ,, | 7,12 ,, |
| N. . . . . . . . | 9,25 ,, | 9,06 ,, |
| Cu . . . . . . . | 20,55 ,, | 20,39 ,, |

Die Substanz ist das Kupfersalz einer Diaminononamethylendicarbonsäure:

$$HOOC-CH.NH_2-(CH_2)_7-CH.NH_2-COOH,$$

oder sie hat vielleicht folgende Struktur:

$$\begin{matrix} {CH_3 \atop CH_3}{>}CH-CH_2-CH-NH_2-COO \\ {CH_3 \atop CH_3}{>}CH-CH.NH_2-COO \end{matrix}{>}Cu,$$

ist also zusammengesetzt aus Leucin und Valin.

*Fraktion 4:* F. 215°.

Wird in Kupferverbindungen übergeführt; dabei wurden zwei Fraktionen erhalten:

*Fraktion 1* mit Cu = 16,25 Proz. (Phenyl-alanin),
„ *2* „ Cu = 25,74 „ (Alanin).

*Fraktion 5: Sirup.*

Der Sirup wurde in Wasser gelöst und die Lösung mit $Cu(OH)_2$ aufgekocht. Die blaue Flüssigkeit wurde eingeengt und mit Alkohol versetzt. Aus der entstandenen Fällung konnte man ein Kupfersalz bereiten, welches 11,23 Proz. Kristallisationswasser enthielt und einen auffallenden Umschlag der Farbe beim Trocknen zeigte. Wasserhaltiges Salz ist blau; das getrocknete ist rötlich-lila; beim Aufbewahren an der Luft wird es wieder blau.

0,1954 g: 0,0529 g CuO; Cu = 21,54 Proz.

Wasserverlust: gefunden 11,23 Proz.; berechnet auf $C_{10}H_{20}N_2O_4Cu . 2 H_2O$: 10,84 Proz.

Der Cu-Gehalt stimmt auf Valinkupfer; die Substanz ist aber kein Valinkupfer, da sie alkohollöslich ist, mit 2 $H_2O$ kristallisiert und einen eigenartigen Umschlag der Farbe zeigt, was für Valinkupfer bisher nicht beobachtet wurde. Eine eingehendere Untersuchung der Substanz konnte wegen des Verlustes des Präparates nicht ausgeführt werden.

Aus dem Filtrate von dieser Substanz wurden noch *Butalaninkupfer* (Cu = 23,36 Proz., berechnet: Cu = 23,50 Proz.) und *Leucinkupfer* (Cu = 19,87 Proz.) isoliert.

Bei der Spaltung des Anhydridsirups wurden also folgende Aminosäuren nachgewiesen: *Valin, Leucin, Alanin, Serin, Phenylalanin, Butalanin* und vielleicht eine *Diaminodicarbonsäure.* Wir haben eine reiche Kombinationsmöglichkeit für die Rekonstruierung verschiedener Anhydride im ursprünglichen Sirup. Von fertigen Anhydriden hatten wir in den kristallinischen Fraktionen des Chloroformauszuges: *Phenylalanyl-glycin-anhydrid, Butalanin-anhydrid, Leucyl-alanin-anhydrid* gefunden; vermuten kann man noch die Gegenwart von Leucyl-serin-anhydrid, Leucyl-valin-anhydrid und komplizierten Dipeptinen, welche vielleicht Diaminosäuren enthalten oder erzeugen.

*Fraktion 4. In Wasser unlöslicher Anteil des Sirups.*

Nach dem Abdampfen des Chloroforms wurde der Sirup in Alkohol gelöst, dabei scheiden sich die Kristalle aus, welche in kaltem Alkohol unlöslich sind. Sie wurden abgesaugt und mit Alkohol und Äther nachgewaschen. In Wasser sind sie unlöslich, geben keine Ninhydrinreaktion und besitzen F. 255°. Nach dem Umkristallisieren aus siedendem Alkohol werden sie in zwei Fraktionen getrennt; die erste mit F. 267°, sie ist sehr schwer löslich in Alkohol; und die zweite mit F. 254°, welche in Alkohol ziemlich löslich ist. Das alkoholische Filtrat von der oben erwähnten Abscheidung hinterläßt nach dem Abdampfen einen Sirup.

*Anhydrid mit F. 267°.*

0,1123 g: 0,2610 g $CO_2$; 0,0995 g $H_2O$; C = 63,38 Proz.; H = 9,91 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{12}H_{22}N_2O_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 63,39 Proz. | 63,71 Proz. |
| H. . . . . . . . | 9,91 „ | 9,73 „ |

Die Substanz ist *Leucinanhydrid.*

*Anhydrid mit F. 254°.*

0,0689 g: $v$ = 7,35 ccm (19°, 748 mm); N = 12,07 Proz.

### Untersuchung des Sirups.

Der zurückgebliebene Sirup wurde in Äther gelöst und die ätherische Lösung mit Wasser ausgeschüttelt. In Wasser geht ein Teil des Sirups über. Die wässerige Lösung hinterläßt nach dem Abdampfen eine weiße kristallinische Masse, welche mit Ninhydrin positiv reagiert. Nach dem Kochen mit $CuCO_3$ erhält man eine blaue Flüssigkeit. Beim Erkalten scheiden sich blaßblaue Kristalle ab, welche 18,95 Proz. Cu enthalten (Fraktion 1).

Beim Einengen des Filtrats gewinnt man noch

Fraktion 2 mit Cu = 20,19 Proz. (Leucin),
„ 3 „ Cu = 21,58 „ (Valin).

*Fraktion 1.*

0,1600 g: 0,2676 g $CO_2$; 0,0938 g $H_2O$.
0,1022 g: $v$ = 7,8 ccm (19°, 754 mm); N = 8,71 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{13}H_{24}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 45,56 Proz. | 46,27 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 6,51 „ | 7,16 „ |
| N . . . . . . . . . | 8,71 „ | 8,35 „ |
| Cu . . . . . . . . | 18,95 „ | 18,80 „ |

Die Säure $C_{13}H_{26}N_2O_4$ könnte man sich folgendermaßen angeordnet denken:

```
CH2—CH2—CH2—CH—CH2—CH2—CH2—CH—CH2—CH2—CH2
|            |                  |           |
COOH         NH2                NH2     HOOC
```

Sie ist wahrscheinlich aus dem Anhydrid folgender Art entstanden:

```
CH2—CH2—CH2—CH—CH2—CH2—CH2—CH—CH2—CH2—CH2
|            |                  |           |
CO-----------NH                 NH---------CO
```

Die mit Wasser ausgeschüttelte ätherische Lösung des Sirups wurde nach dem Abdampfen des Äthers mit Benzol behandelt. In Benzol löst sich eine Substanz mit F. 190°, welche nicht näher untersucht wurde. Der in Benzol unlösliche Anteil des Sirups gibt eine Kristallisation eines Anhydrids, das nach der Reinigung F. 252° aufwies.

0,1422 g: 0,3201 g $CO_2$; 0,1107 g $H_2O$.
0,1413 g: $v$ = 14,9 ccm (20°, 756 mm); N = 11,99 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{24}H_{40}N_4O_5$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 61,39 Proz. | 62,10 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 8,71 „ | 8,62 „ |
| N . . . . . . . . . | 11,99 „ | 12,06 „ |

Dieses komplizierte Anhydrid könnte man sich etwa als aus zwei Diaminodicarbonsäuren entstanden vorstellen, aus:

$$HOOC-CH.NH_2-(CH_2)_8-CH.NH_2-COOH; \quad C_{12}H_{24}N_2O_4$$

und

$$HOOC-CHNH_2-(CH_2)_7-CHOH-CH.NH_2-COOH; C_{12}H_{24}N_2O_5$$

Die Konstitution des Anhydrids wäre eine folgende:

```
 /CH—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH\
/  |                                   |  \
CO NH                                  CO  NH
|  |                                   |   |
NH CO                                  NH  CO
\  |                                   |  /
 \CH—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CHOH—CH2—CH/
```

Derartige höhere Diaminosäuren wurden unter den Spaltungsprodukten des Caseins und der Proteide gefunden. *Skraup*[1]) berichtet über Diaminotrioxydodekansäure, Dioxydiaminosuberinsäure, Oxyaminosuberinsäure, *Wohlgemuth*[2]) hat Oxydiaminosebacinsäure konstatiert.

Aus dem zurückgebliebenen Sirup wurden noch zwei Anhydride erhalten. Das Rohprodukt wies einen deutlichen Buttersäuregeruch auf. Nach der Reinigung hatten sie F. 268° und F. 223°.

*Anhydrid mit F. 268°.*

0,1037 g: $v$ = 10,9 ccm (20°, 750 mm); N = 11,87 Proz.

Berechnet für Leucinanhydrid: N = 12,29 Proz.

*Anhydrid mit F. 223°.*

0,0674 g: 0,1372 g $CO_2$; 0,0391 g $H_2O$.

0,0722 g: $v$ = 8,9 ccm (19°, 751 mm); N = 14,01 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_9H_{12}N_2O_3$ | $C_9H_{14}N_2O_3$ |
|---|---|---|---|
| C. . . . | 55,50 Proz. | 55,10 Proz. | 54,82 Proz. |
| H. . . . | 6,49 „ | 6,62 „ | 7,10 „ |
| N. . . . | 14,01 „ | 14,28 „ | 14,23 „ |

Die Substanz entspricht besser der Formel $C_9H_{12}N_2O_3$ und könnte vielleicht ein dehydrogenisiertes Oxyprolyl-butalanin-anhydrid sein:

```
CH-CH.OH
||  |
CH  CH—CO—NH
 \ /       |
  N-----CO—CH.C2H5
```

**Hydrolyse des Restsirups.**

Der von den oben beschriebenen Kristallisationen abgetrennte Restsirup war aminosäurefrei und gab keine weiteren kristallinischen Abscheidungen. Der Sirup wurde durch 12stündiges Kochen mit 25proz. $H_2SO_4$ gespalten. Nach Entfernen von $H_2SO_4$ und beim Einengen des Hydrolysats erhält man zwei Hauptkristallisationen (Fraktionen 1 und 2) und Sirup (Fraktion 3). Sämtliche Fraktionen wurden in Kupfersalze übergeführt und als solche fraktioniert.

*Fraktion 1.*

Aus derselben gewinnt man drei Fraktionen:

*Fraktion 0*: unlöslich in Wasser; umkristallisiert aus Essigsäure; Gehalt an Cu = 20,46 Proz.

0,1245 g: 0,1960 g $CO_2$; 0,0794 g $H_2O$.

| | Gefunden: | | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|---|
| C. . . . . . . . . | 42,94 Proz. | | 42,99 Proz. |
| H. . . . . . . . . | 7,14 „ | | 6,51 „ |
| N. . . . . . . . . | 8,71 „ | (*Kjeldahl*) | 9,12 „ |
| Cu . . . . . . . . | 20,46 „ | | 20,52 „ |

[1]) H. S. 42, 540. — [2]) Ber. 37, 4362.

Die Substanz ist mit Phosphorwolframsäure fällbar und entspricht der Diamino-dicarbonsäure: $C_{11}H_{22}N_2O_4$:

```
CH2—CH2—CH2—CH—CH2—CH—CH2—CH2—CH2
|               |       |           |
COOH          H2N       NH2     HOOC
```

dieselbe ist wahrscheinlich aus dem Anhydrid folgender Art entstanden:

```
CH2—CH2—CH—CH2—CH—CH2—CH2
|        |       |      |
CH2—CO—NH       NH—CO—CH2
```

Das Anhydrid besteht also aus zwei *Ketopiperidinringen* und unterscheidet sich demnach von den typischen Dipeptinen, welche aus zwei gekoppelten Diketopiperazinringen gebildet sind. Derartige Körper wurden zwischen Produkten der katalytischen Spaltung des Roßhaares angetroffen [1]). Wir möchten vorschlagen, derartige Bildungen als **Di-piprine** zu bezeichnen und Ketopiperidinring verkürzt als *Piprinring* zu benennen. Das Anhydrid $C_{11}H_{18}N_2O_2$ würde ein Methylen-dipiprin sein.

*Fraktion 1.* Cu = 20,07 Proz. (Leucin).

„ 2. Blaues Salz, welches in Alkohol löslich ist.
Cu = 22,89 Proz. Ber. f. Serinkupfer: Cu = 23,24 Proz.

*Fraktion 2.*

Man erhält folgende Kristallisationen von Kupfersalzen:

1. Cu = 18,93 Proz.
2. Cu = 19,39 „ (Leucin)
3. Cu = 18,44 „
4. Cu = 20,89 „
5. Cu = 25,42 „ (Alanin)
6. Cu = 22,51 „ alkohollöslich (Prolin)

Von diesen wurde Fraktion 4 näher untersucht:

0,2048 g: 0,3009 g $CO_2$; 0,1161 g $H_2O$.
0,1717 g: $v$ = 13,1 ccm (16°, 737 mm); N = 8,62 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{20}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 40,06 Proz. | 40,67 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 6,35 „ | 6,77 „ |
| N . . . . . . . . . | 8,62 „ | 9,49 „ |
| Cu . . . . . . . . | 20,89 „ | 21,35 „ |

Die Substanz stimmt auf Diaminosebacinsäure $C_{10}H_{22}N_2O_4$, eventuell

```
CH2—CH2—CH2—CH—CH—CH2—CH2—CH2
|            |   |            |
COOH       NH2 NH2        HOOC
```

Sie könnte aus folgendem Anhydrid entstehen:

```
CH2—CH2—CH—CH—CH2—CH2
|        |   |      |
CH2—CO—NH   NH—CO—CH2
```

Das Anhydrid $C_{10}H_{16}N_2O_2$ ist wiederum als ein *Dipiprin* aufzufassen.

---

1) *W. S. Ssadikow*, diese Zeitschr. **143**, 504, 1923.

*Fraktion 3*: Sirup.

Aus demselben wurden folgende Fraktionen dargestellt:

| | | |
|---|---|---|
| Fraktion 0. | Cu = 19,32 Proz. | |
| „ 1. | Cu = 16,28 „ | (Phenylalanin) |
| „ 2. | Cu = 18,63 „ | |
| „ 3. | Cu = 19,96 „ | (Leucin) |
| „ 4. | Cu = 33,98 „ | (Glutaminsäure) |
| „ 5. | Cu = 19,22 „ | (Leucin) |

*Fraktion 0.*

0,1363 g: 0,2320 g $CO_2$; 0,0840 g $H_2O$.

0,1300 g: $v$ = 9,3 ccm (12°, 759 mm); N = 8,48 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{13}H_{24}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C | 46,41 Proz. | 46,70 Proz. |
| H | 6,89 „ | 6,88 „ |
| N | 8,48 „ | 8,38 „ |
| Cu | 19,32 „ | 18,86 „ |

Die Säure $C_{13}H_{26}N_2O_4$ ist mit Phosphorwolframsäure fällbar und scheint wieder eine Diaminodicarbonsäure zu sein, welche sich aus einer anhydridartigen Vorstufe gebildet hatte. Die Struktur der Säure ist anzunehmen:

```
CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH2—CH1—CH2—CH2—CH2
|        |                       |          |
COOH    H2N                     NH2     HOOC
```

Sie kann in ein Anhydrid rekonstruiert werden:

```
CH2—CH2—CH—CH2—CH2—CH2—CH—CH2—CH2
|        |                |       |
CH2—CO—NH                NH—CO—CH2
```

Wir können eine solche Verbindung als *Trimethylen-dipiprin* auffassen. Der höchst resistente Sirup enthält andersartige Anhydride als die kristallinischen Fraktionen des Chloroformextraktes; während in letzterem der *Peptin-typus* herrscht, scheint im sirupösen Anteil der *Piprin-typus* obzuwalten.

## Untersuchung des amylalkoholischen Extraktes des Katalysats.

Nach dem Erschöpfen des Katalysats mit Äther, Essigäther und Chloroform wurde dasselbe mit Amylalkohol ausgeschüttelt, wobei eine reichliche Menge der Substanzen der wässerigen Lösung entnommen wird. Der amylalkoholische Auszug wurde durch Ausschütteln mit Wasser in zwei Hauptfraktionen getrennt; eine in Wasser lösliche A und eine in Wasser unlösliche B. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels bleiben Sirupe übrig.

Fraktion A zeigt Reaktionen auf freie Aminosäuren.

### Fraktion A.

Der Sirup wurde in Äthylalkohol aufgenommen, dabei scheidet sich ein reichlicher *Niederschlag* aus, er wird mit Alkohol gewaschen und in Wasser gelöst, eventuell mit Tierkohle teilweise entfärbt. Die Lösung ist ninhydrin- und millonpositiv, mit Phosphorwolframsäure fällbar; beim Kochen mit $Cu(OH)_2$ entsteht eine nur schwach blau gefärbte Flüssigkeit.

*Untersuchung des Niederschlages.*

Der vorgetrocknete Niederschlag wird mit siedendem Alkohol erschöpft. Die alkoholischen Auszüge hinterlassen eine feste Substanz, welche ninhydrinnegativ ist, also wahrscheinlich einen anhydridartigen Körper enthält. Sie ist in Wasser löslich, mit Phosphorwolframsäure fällbar und gibt intensive *Millon*sche Reaktion, woraus zu schließen ist, daß das betreffende Anhydrid in seiner Struktur einen Tyrosinkomplex aufweist. Diese Fraktion ist sehr gering.

*Der in siedendem Alkohol unlösliche Anteil.*

Derselbe wurde aus Wasser kristallisiert; dabei wurden folgende Fraktionen gewonnen:

1. F. 256°, 2. F. 251°, 3. F. 242°, 4. Sirup.

Fraktionen 1 und 2 sind vereinigt und wiederum umkristallisiert. Man erhält:

1. faserig-kristallinische Masse, welche nur in siedendem Wasser löslich ist, unlöslich in Alkohol und in Eisessig. Sie ist stark millonpositiv und hat F. 269°;
2. kristallinische Substanz mit F. 268,5°;
3. ebenfalls mit F. 262°;
4. „ „ F. 264°;
5. „ „ F. 254°.

Fraktionen 1, 2, 3, 4 wurden vereinigt und wieder umkristallisiert (aus siedendem Wasser). Man erhält Fraktionen: a) F. 279°, b) F. 263°, c) F. 269°, d) F. 275°, e) F. 264°.

Fraktionen a) und d) sind vereinigt und umkristallisiert. Man gewinnt Fraktionen $\alpha$) F. 279°, $\beta$) F. 280°, $\gamma$) F. 282°.

In allen diesen Fraktionen ($\alpha$, $\beta$ und $\gamma$) ist die *Millon*sche Reaktion stark ausgeprägt.

*Fraktion $\alpha$):*

Sie wurde aus siedender 80proz. Essigsäure umkristallisiert; dabei bleibt ein kleiner Anteil der Substanz unlöslich; sie zeigt F. 284°, ist ninhydrin- und millonpositiv.

0,1462 g: $v$ = 10,2 ccm (19°, 758 mm); N = 8,00 Proz.
Berechnet für Tyrosin: N = 7,74 Proz.

Beim Erkalten der Lösung scheidet sich ein Niederschlag ab, welcher in Eisessig unlöslich ist. Die Substanz hat F. 286,5°, sie ist stark millonpositiv.

0,0813 g: $v$ = 6,0 ccm (19°, 747 mm); N = 8,34 Proz.

Es ist also sicher *Tyrosin* nachgewiesen.

Das essigsaure Filtrat wird zur Trockne abgedampft; es hinterbleibt eine weiße kristallinische Masse, welche stark millonpositiv ist. Nachdem die Essigsäure durch nachfolgende Ätherextraktion völlig entfernt war, wurde die wässerige Lösung mit $Cu(OH)_2$ gekocht; man erhält eine blaue Flüssigkeit, welche beim Einengen braune, amorphe, in Alkohol unlösliche Massen abscheidet. Nach Entfernen derselben tritt beim Abdampfen des Filtrats wieder die gleiche Zersetzung ein.

Das Filtrat wurde trotzdem bis zur Trockne abgedampft und der Rückstand mit Methylalkohol behandelt. Die alkoholische Lösung hinterläßt ein grünes Kupfersalz, welches stickstofffrei ist und 30,64 Proz. Cu enthält. Berechnet für propionsaures Kupfer: Cu = 30,73 Proz.

Fraktion $\alpha$ enthält außer Tyrosin noch einen anderen Millonkörper, welcher in Essigsäure löslich ist und sich unter Abspaltung von Propionsäure zersetzt. Es ist nicht gelungen, ihn näher zu fassen; vielleicht haben wir es hier mit einer dem Tyrosin (p-Oxyphenyl-$\alpha$-aminopropionsäure) isomeren p-Oxy-amino-phenyl-propionsäure zu tun.

*Fraktion $\beta$.* F. 280°.

Die *Millon*sche Reaktion ist sehr intensiv. Beim Kochen der Lösung mit $CuCO_3$ erhält man eine blaue Flüssigkeit, welche beim Einengen amorphe braune Massen abscheidet. Nach wiederholter Abtrennung derselben wurde die Lösung bis zur Trockne abgedampft. Der trockne Rückstand wurde in Methylalkohol aufgenommen, dabei löst sich ein Teil in Methylalkohol.

| | |
|---|---|
| Der in Alkohol unlösliche Anteil enthält: | Cu = 16,14 Proz. |
| Der in Alkohol lösliche Anteil enthält: | Cu = 16,42 „ |
| Berechnet für Tyrosinkupfer: | Cu = 15,01 „ |
| Berechnet für Phenyl-alaninkupfer: | Cu = 15,62 „ |

Beim Verbrennen dieser Kupferverbindungen tritt ein deutlicher Phenolgeruch auf; die Substanzen sublimieren nicht, wie es für die meisten Aminosäuren gewöhnlich der Fall ist.

Die Substanzen kann man nicht mit dem Tyrosin identifizieren.

*Fraktion $\gamma$.* F. 282°.

Stark millonpositiv. Beim Behandeln mit $CuCO_3$ treten die gleichen Erscheinungen wie bei den Fraktionen $\alpha$ und $\beta$ auf. Ein Teil des Rückstandes geht in Methylalkohol über; daraus gewinnt man ein blaues amorphes Kupfersalz mit Kupfergehalt 15,52 Proz. Beim Verbrennen desselben entwickelt sich ein Phenolgeruch. Die Substanz ist ebenfalls kein Tyrosin, obwohl sie mit *Millons* Reagens eine für Tyrosin charakteristische Reaktion zeigt.

*Vereinigte Fraktionen b, c und e.*

Nach dem Umkristallisieren aus Wasser gewinnt man eine Substanz mit F. 261°. Sie ist millonnegativ. Die Substanz wurde in das Kupfersalz übergeführt, wobei zwei Fraktionen getrennt wurden, nämlich:

Fraktion 0, ein schwach blaues Salz, welches in Wasser ganz unlöslich, in Ammoniak löslich ist und daraus durch Auskochen von $NH_3$ fällbar. Es enthält Cu = 22,45 Proz.

Fraktion 1 ist in Wasser sehr leicht löslich und wird nach dem Einengen der stark blauen Lösung mit Alkohol gefällt.

Die Substanz hat Cu = 23,56 Proz.

Berechnet für Butalaninkupfer: Cu = 23,50 Proz.

*Fraktion 3 mit F. 242°.*

Millonnegativ, ninhydrinpositiv. Die Fraktion wurde mit siedendem Methylalkohol bearbeitet. Beim Erkalten des Filtrats scheidet sich ein weißer kristallinischer Körper aus, welcher in Wasser löslich ist, ninhydrinnegativ, jedoch ein bläuliches Kupfersalz liefert mit Cu = 6,18 Proz. Nach dem Abfiltrieren dieser Abscheidung wird die alkoholische Lösung abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und mit $CuCO_3$ gekocht. Man gewinnt folgende Fraktionen der Kupferverbindungen:

1. mit Cu = 17,56 Proz.,
2. „ Cu = 13,79 „
3. Sirup, welcher alkohollöslich ist.

Diese Fraktionen wurden bisher nicht näher untersucht.

*Der in Methylalkohol unlösliche Anteil.*

Nach dem Auflösen in Wasser wurde in die Kupfersalze übergeführt. Es wurden folgende Fraktionen erhalten:

| | | |
|---|---|---|
| Fraktion 0: | Cu = 24,33 Proz. | |
| „ 1: | Cu = 23,45 „ | |
| „ 2: | Cu = 15,59 „ | |
| „ 3: | Cu = 10,88 „ | (amorph) |

*Fraktion 1.*

Beim Verbrennen entwickelt sie einen Nadelholzgeruch.

0,2147 g: 0,2513 g $CO_2$; 0,1014 g $H_2O$.

0,3050 g: $v$ = 28,9 ccm (16°, 736 mm); N = 10,69 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_7H_{12}N_2O_5Cu$ |
|---|---|---|
| C | 31,93 Proz. | 31,46 Proz. |
| H | 5,28 „ | 4,50 „ |
| N | 10,69 „ | 10,49 „ |
| Cu | 23,45 „ | 23,59 „ |

Die Substanz ist mit Phosphorwolframsäure fällbar und entspricht wohl einer Diaminooxydicarbonsäure, vielleicht Diaminooxypimelinsäure:

$$HOOC-CH.NH_2-CH_2-CHOH-CH_2-CH.NH_2-COOH.$$

Fraktion 2 ist kein Tyrosin; sie ist millonnegativ. Beim Verbrennen beobachtet man keinen Phenolgeruch. Fraktion 3 ist leicht in Methylalkohol löslich und stellt ein Gemenge von amorphen Verbindungen dar.

*Untersuchung des Hauptsirups.*

Die von dem oben untersuchten Niederschlag abfiltrierte alkoholische Lösung hinterläßt nach dem Abdampfen einen Sirup; derselbe wurde in Wasser gelöst. Beim Einengen der Lösung wurden zwei Kristallisationen erhalten und ein Sirup.

*Kristallisation 1:*

Intensiv millonpositiv. Gibt ein Kupfersalz mit Cu = 15,53 Proz. Vielleicht ein verunreinigtes Tyrosin.

*Kristallisation 2:*

Millonnegativ. Man gewinnt keine blauen Kupfersalze. Einfachere Aminosäuren sind also nicht vorhanden. Bei Behandlung mit $CuCO_3$ konnte man ein grünes kristallinisches Kupfersalz darstellen, welches 18,32 Proz. Cu enthält.

---

Wir konnten also nur folgende freie Aminosäuren in recht kleinen Ausbeuten aus der wasserlöslichen Fraktion A des Amylalkoholauszuges nachweisen:

1. *Tyrosin* und unbestimmte Millonkörper.
2. *Butalanin.*

Außerdem waren keine weitere typische Aminosäuren vorhanden, sondern eine Reihe von Substanzen, welche grünliche Kupfersalze liefern und sich durch niedrigen Kupfergehalt auszeichnen. Diese nicht aufgeklärten und schwer zu reinigenden Substanzen gehören wahrscheinlich zu den Di- bzw. Polypeptinsäuren, analog denen, welche bei der Spaltung des Valylleucinanhydrids aus dem Ätherauszuge von uns beobachtet wurden. Es wurde noch eine Substanz mit den Eigenschaften und der annähernden Zusammensetzung der Diaminooxypimelinsäure gefunden.

Der von allen diesen ninhydrinpositiven Körpern befreite Sirup war ninhydrinnegativ und bestand also aus anhydridartigen Verbindungen, welche die überwiegende Menge der ganzen Fraktion A ausmachen.

*Spaltung des Sirups.*

Der Sirup wurde mit 25proz. $H_2SO_4$ 18 Stunden gekocht. Nach dem Entfernen von $H_2SO_4$ war das Hydrolysat ninhydrin- und millonpositiv und mit Phosphorwolframsäure fällbar. Es waren also Tyrosin, Aminosäuren und Diaminosäuren gebildet.

Beim Einengen des Hydrolysats scheidet sich bald eine schwer lösliche Kristallisation aus. Sie ist in Alkohol unlöslich, millonnegativ und mit Phosphorwolframsäure nicht fällbar (*Fraktion A*). Das eingeengte Filtrat wurde mit Alkohol versetzt; dabei scheidet sich *Fraktion B* aus. Die alkoholische Lösung wird abgedampft und in Wasser aufgenommen; man erhält einen in Wasser unlöslichen Niederschlag, welcher in Alkohol gut löslich ist; er zeigt keine Ninhydrin- und *Millon*sche Reaktionen und besteht aus Anhydriden (*Fraktion C*). Das Filtrat von diesen Anhydriden hinterläßt einen Sirup (*Fraktion D*).

**Fraktion A.**

Sie wurde in Kupfersalze übergeführt. Man gewinnt folgende Kristallisationen:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Fraktion 0: | Cu = 21,97 | Proz. | (Valin) |
| „ 1: | Cu = 19,89 | „ | (Leucin) |
| „ 2: | Cu = 19,36 | „ | (Leucin) |
| „ 3: | Cu = 19,31 | „ | (Leucin) |
| „ 4: | Cu = 20,82 | „ | |
| „ 5: | Cu = 22,93 | „ | |
| „ 6: | Cu = 30,14 | „ | (Glycin) |
| „ 7: | Cu = 22,07 | „ | löslich in Alkohol (Prolin: Cu = 21,80 Proz.). |

*Fraktion 0:*

0,1788 g: 0,2738 g $CO_2$; 0,1105 g $H_2O$.
0,1352 g: $v$ = 10,1 ccm (21°, 756 mm); N = 8,46 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{18}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 41,77 Proz. | 41,52 Proz. |
| H . . . . . . . . | 6,91 „ | 6,23 „ |
| N . . . . . . . . | 8,46 „ | 9,56 „ |
| Cu . . . . . . . . | 21,97 „ | 21,80 „ |

Die Substanz gibt keine gute Übereinstimmung mit Valinkupfer; sie ist bedeutend weniger löslich in Wasser als Valinkupfer; sie dürfte also noch ziemlich verunreinigt sein.

*Fraktion 4:*

0,1191 g: 0,1905 g $CO_2$; 0,0737 g $H_2O$.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 43,62 Proz. | 43,07 Proz. |
| H . . . . . . . . | 7,01 „ | 6,51 „ |
| Cu . . . . . . . . | 20,82 „ | 20,52 „ |

Diese Fraktion ist wahrscheinlich ein Gemisch von Leucin- und Valinkupfer.

**Fraktion B.**

Bei Behandlung der Lösung mit $CuCO_3$ bildet sich ein in heißem Wasser unlösliches Kupfersalz, welches mit $CuCO_3$ auf dem Filter bleibt. Der Filterrückstand wurde mit Essigsäure bearbeitet, wobei er aber nur teilweise in Lösung geht. Der unlösliche Anteil wird in Ammoniak gelöst. Beim Auskochen der ammoniakalischen Lösung scheidet sich ein in Wasser unlösliches violettes Kupfersalz ab, welches einen Kupfergehalt von 19,88 Proz. besitzt.

Aus dem Anteile, welcher in Essigsäure löslich war, konnte man ein blaß-blaues, in Wasser fast unlösliches Kupfersalz gewinnen mit Cu = 21,89 Proz. Es handelt sich wahrscheinlich um Leucin und Valinkupfer, obgleich sie auffallend schwer löslich sind (vielleicht sind das Norleucin und Nor-valin).

0,1994 g: 0,3060 g $CO_2$; 0,1227 g $H_2O$.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{10}H_{18}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 41,84 Proz. | 41,52 Proz. |
| H . . . . . . . . | 6,88 „ | 6,23 „ |
| Cu . . . . . . . . | 21,89 „ | 21,80 „ |

Das Filtrat ist nur schwach blau gefärbt und enthält nur geringe Mengen Substanz. Man konnte daraus noch folgende sehr kleine Fraktionen darstellen:

1. mit Cu = 19,19 Proz. (Leucin)
2. „ Cu = 20,64 „ welche in Alkohol löslich ist;
3. „ Cu = 35,83 „ grünes Salz, welches stickstofffrei ist.

Berechnet für bernsteinsaures Kupfer: Cu = 35,20 Proz.

Alle diese Produkte sind ziemlich unrein und ihrer kleinen Mengen wegen konnten sie nicht gehörig nachgereinigt werden. Die Bernsteinsäure stammt sicher von der Asparaginsäure, welche als solche nicht angetroffen wurde, wohl aber als Fumarsäure in einer vorausgegangenen Fraktion ermittelt wurde.

**Fraktion C.** (Anhydride.)

Nach dem Umkristallisieren der oben erwähnten Fällung aus Alkohol wurden zwei Anhydride isoliert mit F. 276° und mit F. 268°.

*Anhydrid mit F. 276°.*

0,1466 g: $v$ = 18,0 ccm (20°, 754 mm); N = 13,93 Proz.

Berechnet auf Phenylalanyl-glycin-anhydrid: N = 13,73 Proz.

*Anhydrid mit F. 268°.*

0,0747 g: $v$ = 9,0 ccm (20°, 742 mm); N = 13,45 Proz.

Berechnet für Valyl-leucin-anhydrid: N = 13,21 Proz.

Diese Substanzen waren in ganz geringen Mengen vorhanden. Es ist doch höchst auffallend, daß die Anhydride als solche ein 18stündiges Kochen mit 25proz. $H_2SO_4$ überstanden hatten. Die Stickstoffanalyse allein gibt keinen sicheren Aufschluß über die Art der Anhydride; die Gegenwart von Valyl-leucin-anhydrid bzw. Phenylalanyl-glycin-anhydrid ist nur als wahrscheinlich vorausgesetzt worden; aber das Vorhandensein von Leucin, Valin und Glycin in der Fraktion A bestätigt eine solche Vermutung besonders in Beziehung des Valyl-leucin-anhydrids, durch dessen Spaltung Leucin und Valin entstehen können. Im ursprünglichen Sirup kann aber Valyl-leucin-anhydrid als solches keineswegs vorhanden sein,

weil derartige Peptine, wie wir wissen, bei den erschöpfenden Extraktionen, welche das Katalysat erlitten hatte, sich nicht im amylalkoholischen Restsirup anhäufen dürften; und wäre das doch der Fall gewesen, so müßten sie sehr bald durch kochende Schwefelsäure gespalten werden. Um die Tatsache der Resistenz der Anhydride gegen kochende Schwefelsäure zu erklären, bleibt nichts übrig, als anzunehmen, daß diese Substanzen von sehr resistenten Komplexen (Vorstufen) nur allmählich abgespalten werden. Im ursprünglichen Sirup haben wir es vielleicht mit Di- bzw. Polypeptinen zu tun, wo einzelne Peptine zu Ketten zusammengeknüpft sind und folgende Gestaltung aufweisen:

```
               C3H7      C4H9                      C3H7
                |         |                         |
  NH—CO—C———————C——CO—NH         NH—CO—C—
   |     I    |         |    II    |          |  III   |
 —C———CO—NH        NH—CO—C—————————C  —CO—NH
   |                        |          |
  C4H9                     C3H7       C4H9
```

An den Enden solcher Peptinketten sind wahrscheinlich die am leichtesten abspaltbaren Tyrosyl-butalanyl-anhydride eventuell Tyrosyl-leucin-anhydride angelagert, welche die Gegenwart von Tyrosin, Butalanin und Leucin in Fraktion A vom Hydrolysat des Sirups erklären: Diese Vermutungen hoffen wir durch die Darstellung von synthetischen Polypeptinen und durch deren Verhalten gegen Schwefelsäure zu prüfen.

**Fraktion D.** Sirup.

Der Restsirup, welcher eine ziemlich beträchtliche Menge des Hydrolysats darstellt, wurde in Wasser gelöst und mit Phosphorwolframsäure in zwei Fraktionen geteilt: Nach der Zerlegung der Phosphorwolframate mit $Ba(OH)_2$ bekommt man sowohl aus dem Phosphorwolfram-Niederschlage, wie auch aus dem Filtrate desselben nur Sirupe, welche keine freie Aminosäuren enthalten und nicht zur Kristallisation zu bringen waren.

Auch die Behandlung mit Bromwasser führte zu keinen kristallinischen Kupfersalzen. Man erhält *grüne Kupfersirupe*, welche sich nicht trocknen lassen und über 100° sich in schmierige braune Massen zersetzen.

Aus dem Filtrate vom Phosphorwolfram-Niederschlage konnten wir eine grüne, alkoholische Kupferverbindung darstellen, welche stickstofffrei war und 26,39 Proz. Cu enthielt, und eine andere mit Cu = 21,70 Proz., welche ebenfalls keinen Stickstoff besaß.

Der *grüne Kupfersirup* scheint aus einem Gemische von Polyanhydriden, Polypeptinsäuren und stickstofffreien höheren Dicarbonsäuren zu bestehen, welche als Desaminierungsprodukte von höheren Aminosäuren zu betrachten sind.

*Hydrolyse des grünen Kupfersirups.*

Der Sirup wurde mit $H_2S$ entkupfert und mit 25proz. $H_2SO_4$ 8 Stunden gekocht. Nach dem Entfernen von $H_2SO_4$ wird die Lösung mit $CuCO_3$ behandelt.

Man bekommt eine *blaue* Flüssigkeit, welche beim Einengen ein blaues Kupfersalz mit Cu = 21,99 Proz. (Valin) abscheidet.

Aus der Mutterlauge von Valinkupfer wurde durch Alkohol ein grünes, stickstofffreies Kupfersalz niedergeschlagen, welches einen Cu-Gehalt von 46,72 Proz. hatte.

Berechnet für glutarsaures Kupfer: Cu = 46,87 Proz.

$$\underset{\underset{\diagdown\quad Cu\quad \diagup}{COO\qquad COO}}{CH_2-CH_2-CH_2};\ C_5H_6O_4Cu$$

Aus dem alkoholischen Filtrat wurde noch ein stickstofffreies grünes Kupfersalz gewonnen, welches 43,44 Proz. Cu enthält.

0,9876 g: 0,8438 g $CO_2$; 0,3571 g $H_2O$.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_6H_8O_4Cu.Cu(OH)_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 23,27 Proz. | 23,68 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 4,05 „ | 3,29 „ |
| Cu . . . . . . . . | 43,44 „ | 41,44 „ |

Die Substanz ist wahrscheinlich ein Kupfersalz der Pimelinsäure und stammt von der oben aufgefundenen Diaminooxypimelinsäure her.

$$CH_2-CH_2-CH_2-CH_2.Cu(OH)_2$$
$$COO\qquad\qquad COO$$
$$\diagdown\quad Cu\quad \diagup$$

Aus dem Filtrate wurde noch ein Kupfersalz dargestellt, welches *schwefelhaltig* und stickstoffhaltig war und beim Verbrennen einen starken *Buttersäure*geruch entwickelte; es hat Cu-Gehalt: 21,48 Proz.

Berechnet für thio-amino-buttersaures Kupfer: Cu = 21,07 Proz.

Im äußerst resistenten Restsirup wurden nach der zweiten Hydrolyse nun wieder Aminosäuren gefunden, nämlich Valin und Thioaminobuttersäure, welche im ursprünglichen Sirup anhydridartig gebunden waren, in Form etwa eines *Valyl-thiobutalanin-anhydrids.* Außerdem sind stickstofffreie Dicarbonsäuren nachgewiesen, Glutarsäure und Pimelinsäure. Erstere ist wohl aus Glutaminsäure, die zweite aus Diaminopimelinsäure entstanden, welche wahrscheinlich wiederum anhydridartig im ursprünglichen Sirup verknüpft waren.

### Untersuchung des in Wasser unlöslichen Anteils des amylalkoholischen Auszuges.

Der Amylalkohol wurde abdestilliert. Der übrigbleibende, sehr beträchtliche Sirup war in Wasser völlig unlöslich. Auch bei jahrelangem Aufbewahren zeigte sich keine Kristallisation. Aminosäuren waren nicht nachweisbar, auch nicht nach der Spaltung des Sirups mit konzentrierter HCl. Die Peptidanhydride (Peptine) fehlen also in dieser Fraktion.

Die Fraktion enthält viel Schwefel und Stickstoff, welche anscheinend in fester, durch Kochen mit konzentrierten Säuren nicht lösbarer Bindung vorhanden sind. Es hatte viel Mühe erfordert, um etwas Näheres über die Natur der Substanzen, aus welchen der betreffende Sirup bestehen konnte, zu erfahren: Wir führen hier einige Versuche an.

*Versuch 1.* Der Sirup wurde mit HCl-Gas gesättigt und mit konzentrierter HCl übergossen, wobei Lösung eintrat; die Lösung wurde 18 Stunden gekocht. Nach dem Entfernen von HCl bekommt man einen in Wasser löslichen Sirup, welcher ninhydrinnegativ ist und mit $CuCO_3$ keine blaue Flüssigkeit gibt. NaOH scheidet aus wässeriger Lösung einen

geringen, schmierigen Niederschlag ab. Das alkoholische Filtrat wurde benzoyliert, aber man konnte keine isolierbaren Benzoylierungsprodukte gewinnen. Eine freie Aminogruppe war also im gespaltenen Sirup nicht nachweisbar.

*Versuch 2.* Der Sirup wurde mit 25proz. $H_2SO_4$ versetzt und 10 Stunden gekocht. Vom Sirup geht nur ein sehr geringer Teil in Lösung, der größte Teil bleibt als ein schwimmendes Öl unangegriffen zurück. Das Öl enthält viel Schwefel- und Stickstoffverbindungen. Das Öl ist auch in vacuo nicht destillierbar, sondern verkohlt. Es scheidet auch beim längeren Aufbewahren und bei Anwendung von verschiedenartigen Maßnahmen keine Kristalle ab. Es ist in Alkohol und NaOH gut löslich. $PtCl_4$ und $HgCl_2$ geben keine Niederschläge, ebenfalls nicht Pikrinsäure.

Die von diesem Öl abgetrennte Lösung wurde von $H_2SO_4$ befreit und mit $CuCO_3$ behandelt. Beim Einengen des grünlichen Filtrats entwickelt sich ein intensiver *Essigsäure*geruch. Das auf dem Filter gebliebene $CuCO_3$ hat einen Geruch nach *Buttersäure.*

Die Flüssigkeit wurde bis zum Sirup eingedampft und in Alkohol aufgenommen; man erhält eine bläulich grüne alkoholische Lösung. Nach dem Eindampfen derselben bleibt eine grüne, spröde Masse zurück, welche einen *Valeriansäure*geruch aufweist. Beim Erhitzen der Masse mit Kalium entwickeln sich *Essigsäure* und *Schwefelwasserstoff.* Die Masse enthält keinen Stickstoff. Sie besitzt den Kupfergehalt: 29,33 Proz.

Es ist ohne Zweifel Thioessigsäure ($CH_3-COSH$) vorhanden.

Berechnet für das Kupfersalz der Thioessigsäure: Cu = 29,57 Proz.

Bei der Einwirkung von $H_2SO_4$ auf den Sirup werden also in recht kleinen Mengen Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure und Thioessigsäure abgespalten. Im Sirup finden sich keine Cystin liefernde Atomgruppierungen des Schwefels, welcher in fester, anscheinend zyklischer Bindung auftritt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß wir es hier mit einer Art von Thiopeptin bzw. Thiopiprinringen zu tun haben.

```
CH2—CS—NH              CH2—CHS=N
 |      |       bzw.    |      |
NH—CS—CH2              N====CHS—CH2
```

oder

```
CH2—CH2—CH2            CH2—CH2—CH2
 |       |      bzw.    |       |
CH2—CS—NH              CH2—CHS==N
```

In letzter Zeit wurden noch einige Versuche unter Anwendung des Bromverfahrens angestellt, welches die Aufschließung des Sirups ermöglichte und zu einer Reihe von faßbaren Produkten geführt hat. Die Untersuchung ist noch nicht abgeschlossen.

### Untersuchung der letzten wässerigen Fraktion des Katalysats.

Nach Erschöpfen des Katalysats mit Äther, Essigäther, Chloroform und Amylalkohol wurde die wässerige Lösung in vacuo bis zum Sirup eingeengt. Dabei schieden sich keine Kristallisationen ab. Der Sirup wurde in Wasser gelöst und mit Bleioxyd bis zum Auftreten einer schwach alkalischen Reaktion versetzt.

Der Bleiniederschlag wurde mit $H_2S$ zerlegt (Fraktion A), das Filtrat eingeengt und ebenfalls mit $H_2S$ behandelt (Fraktion B).

### Fraktion A.

Die Lösung wurde eingeengt und mit Alkohol verdünnt. Dabei bildete sich eine Fällung, welche abfiltriert, in Wasser gelöst und mit $CuCO_3$ behandelt wurde. Man erhält folgende Fraktionen der Kupfersalze von Aminosäuren:

1. mit Cu = 20,12 Proz. (Leucin)
2. „ Cu = 21,28 „ (Valin)
3. „ Cu = 21,56 „ (Valin)
4. „ Cu = 24,96 „
5. „ Cu = 29,03 „ amorph, grün, in Alkohol löslich und N-frei.

### Fraktion B.

Die Lösung ist ninhydrinpositiv und mit Phosphorwolframsäure fällbar. Nach dem Einengen bis zum Sirup wurde derselbe mit Äthylalkohol behandelt und eine Fällung erhalten, welche aus wässerigem Alkohol und dann aus Wasser umkristallisiert wurde. Die Substanz zeigt F. 284°. Mit $Cu(OH)_2$ wurde ein Kupfersalz mit Cu = 23,70 Proz. erhalten. Berechnet für *Butalanin*kupfer: Cu = 23,56 Proz. Das alkoholische Filtrat von diesem Körper wurde bis zur Trockne abgedampft und der Rückstand mit Methylalkohol ausgezogen. Der alkoholische Auszug wurde in Kupfersalze übergeführt. Man gewinnt zwei Kristallisationen:

1. mit Cu = 19,56 Proz. (Leucin),
2. „ Cu = 16,97 „ (Phenylalanin).

Der in Methylalkohol unlösliche Rückstand ist in Eisessig unlöslich und zeigt starke *Millon*sche Reaktion; er verhält sich also wie *Tyrosin*.

Die oben erwähnte äthylalkoholische Lösung, welche von der Substanz mit F. 284° (Butalanin) abgetrennt war, wurde bis zum Sirup abgedampft und mit Methylalkohol versetzt. Man bekommt einen Niederschlag I und ein methylalkoholisches Filtrat II.

*Untersuchung des Niederschlages I.*

Er wurde getrocknet und im Soxhlet mit Äthylalkohol extrahiert. Der Auszug wurde bis zur Trockne abgedampft und der Rückstand mit heißem Methylalkohol ausgezogen. Der in Methylalkohol unlösliche Anteil wurde in Wasser gelöst und in Kupfersalze übergeführt. Man erhält eine Kristallisation mit Cu = 29,90 Proz.

Berechnet für *Glycin*kupfer: Cu = 29,86 Proz.

Die *methylalkoholische Lösung* wurde abgedampft und in Kupfersalze übergeführt. Man gewinnt folgende Fraktionen:

1. mit Cu = 20,66 Proz.
2. „ Cu = 20,17 „
3. „ Cu = 21,16 „ (Valin)
4. „ Cu = 20,18 „
5. „ Cu = 21,32 „ (Valin)
6. „ Cu = 29,82 „ (Glycin)
7. „ Cu = 26,25 „ (Alanin)

*Fraktion 1.*

0,2159 g: 0,3356 g $CO_2$; 0,1301 g $H_2O$.
0,1906 g: $v$ = 15,3 ccm (20°, 758 mm); N = 9,16 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_{11}H_{20}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 42,39 Proz. | 42,71 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 6,74 „ | 7,12 „ |
| N . . . . . . . . . | 9,16 „ | 9,10 „ |
| Cu . . . . . . . . | 20,66 „ | 20,39 „ |

Die Substanz ist wahrscheinlich ein gemischtes Kupfersalz des Leucins und Valins.

*Fraktionen 2 und 4.*

Sie wurden vereinigt und nochmals umkristallisiert. Man erhält ein Kupfersalz mit Cu = 21,52 Proz.

0,1385 g: 0,1824 g $CO_2$; 0,0787 g $H_2O$; 0,0373 g CuO.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_9H_{18}N_2O_5Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . . | 35,91 Proz. | 36,43 Proz. |
| H . . . . . . . . . | 6,36 „ | 6,12 „ |
| Cu . . . . . . . . | 21,52 „ | 21,21 „ |

Die Substanz stimmt mit der Zusammensetzung eines Mischkupfersalzes des Valins und Oxybutalanins:

$$\begin{matrix} {CH_3 \atop CH_3}\!>\!CH-CH.NH_2-COO \\ CH_3-CH(OH)-CH.NH_2-COO \end{matrix}\!\!>\!Cu.$$

überein.

*Untersuchung des Sirups.*

Die wässerige Lösung des Sirups wurde mit $CuCO_3$ gekocht. Das bläulich-grüne Filtrat gab beim Einengen die Kristallisation eines Kupfersalzes mit Cu = 19,52 Proz. (Leucin).

Aus den Mutterlaugen von Leucinkupfer scheidet sich nach dem Zusatze von Methylalkohol eine N-freie Substanz aus, welche den Kupfergehalt: 20,18 Proz. hat. Berechnet auf das Kupfersalz der Säure HOOC . $(CH_2)_{12}$.COOH: Cu = 19,75 Proz.

Das grüne alkoholische Filtrat von oben erwähnter Abscheidung gab nach dem Abdampfen eine schmierige Masse. Sie wurde in Wasser gelöst und mit $H_2S$ zerlegt; die Lösung war aminosäurefrei (ninhydrinnegativ) und hinterließ eine sirupartige Masse beim Abdampfen.

*Hydrolyse des Sirups.*

Der Sirup wurde mit 25proz. $H_2SO_4$ 10 Stunden gekocht. Nach Entfernen der $H_2SO_4$ erwies sich das Hydrolysat ninhydrinnegativ. Es wurde mit $CuCO_3$ verarbeitet, wobei eine *grüne* Lösung entstand. Diese Lösung wird eingengt und mit Alkohol versetzt. Es entsteht eine Fällung, welche abfiltriert und mit Wasser behandelt wurde; ein Teil der Fällung ist in Wasser unlöslich; sie ist N-frei und enthält Cu = 41,48 Proz. (Berechnet für oxalsaures Kupfer: Cu = 41,72 Proz.) Der in Wasser lösliche Teil liefert ein grünes N-freies Kupfersalz mit Cu = 29,91 Proz. (Berechnet auf propionsaures Kupfer: Cu = 30,14 Proz.)

Das Filtrat vom Alkoholniederschlage wurde abgedampft, der Rückstand wieder in Alkohol gelöst und die Lösung mit überschüssigem Essig-

äther versetzt. Es scheidet sich ein grünes N-freies Salz mit Cu = 25,56 Proz. ab. (Berechnet auf aselainsaures Kupfer: Cu = 25,30 Proz.) HOOC $-(CH_2)_7-COOH$-Aselainsäure wurde übrigens vom Lissitcin[1]) als Oxydationsprodukt des Keratins angetroffen.

Beim Abdampfen der essigäther-alkoholischen Lösung scheiden sich blaß-blaue, schön gebildete Kristalle ab, welche anscheinend alkoholhaltig sind; beim Trocknen verwandeln sie sich in eine lackartige Masse. Diese wurde in Wasser gelöst und die wässerige Lösung abgedampft; der Rückstand ist harzartig, in Alkohol löslich, N-frei, mit Kupfergehalt 17,51 Proz.

Im Filtrate vom Essigätherniederschlage befindet sich in bedeutender Menge der grüne Kupfersirup, welcher anscheinend aus Di- bzw. Polypeptinsäuren besteht, die als Umbildungs-, Oxydations- oder Zersetzungsprodukte der Di- bzw. Polypeptine und vielleicht der Di- und Polypiprine betrachtet werden können. Nebenbei sind auch N-freie Säuren vorhanden. Wir konnten z. B. eine mit Cu = 24,53 Proz. isolieren.

0,2125 g: 0,1627 g $CO_2$; 0,0940 g $H_2O$.

*Untersuchung des methylalkoholischen Filtrats II.*

Die Lösung wurde abgedampft und der Rückstand mit Äthylalkohol ausgekocht. Der in Alkohol unlösliche Anteil wurde in Wasser gelöst und die Lösung eingeengt, dabei gewinnt man zwei Kristallisationen, welche einzeln in Kupfersalze übergeführt werden.

*Erste Kristallisation* gab folgende Fraktionen der Kupfersalze:

1. mit Cu = 19,63 Proz. (Leucin)
2. „ Cu = 20,94 „
3. „ Cu = 19,30 „ (Leucin)
4. „ Cu = 21,63 „ (Valin)
5. „ Cu = 16,63 „ (Phenyl-alanin)
6. „ Cu = 16,17 „ (Phenyl-alanin)

*Zweite Kristallisation* gab zwei Fraktionen der Kupfersalze:

1. mit Cu = 24,52 Proz.
2. „ Cu = 26,39 „ (Alanin)

*Fraktion 1.*

0,4064 g: 0,3754 g $CO_2$; 0,1897 g $H_2O$.
0,3816 g: $v$ = 37,7 ccm (22°, 741 mm); N = 10,90 Proz.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_7H_{12}N_2O_4Cu$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 33,37 Proz. | 33,46 Proz. |
| H . . . . . . . . | 5,22 „ | 4,78 „ |
| N . . . . . . . . | 10,90 „ | 11,10 „ |
| Cu . . . . . . . | 24,52 „ | 24,92 „ |

Die Substanz stimmt mit der Zusammensetzung des Kupfersalzes von Diamino-pimelinsäure:

$$HOOC-CH.NH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH.NH_2-COOH.$$

In den oben untersuchten Fraktionen A und B sind also folgende freie Aminosäuren vorhanden: Leucin, Valin, Butalanin, Phenylalanin, Tyrosin, Alanin, Glycin, vielleicht auch Oxybutalanin und schließlich Diaminopimelinsäure. Außer diesen Substanzen nach Abscheidung von oben erwähnter Kristallisation 2 des methylalkoholischen Filtrats bleibt eine

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 226, 1909.

größere Menge Sirup zurück, welcher noch ninhydrinpositiv, also aminosäurenhaltig ist.

| | Gefunden: | Berechnet: $C_9H_{24}O_{16}Cu_2$ |
|---|---|---|
| C . . . . . . . . | 20,87 Proz. | 20,97 Proz. |
| H. . . . . . . . | 4,95 „ | 4,85 „ |
| Cu . . . . . . . | 24,53 „ | 24,46 „ |

Das Kupfersalz enthält 8 Moleküle Wasser und kann also geschrieben werden als: $C_9H_8O_8Cu_2 . 8\,H_2O$; die Substanz ist eine Tetracarbonsäure $C_9H_{12}O_8$:

```
            COOH
            |
           CH—CH2—COOH
       H2C<
           CH—CH2—COOH
            |
            COOH
```

welche von Pimelinsäure $-HOOC-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$ abstammen könnte.

---

Die zahlreichen Aminosäuren, welche in der wässerigen Fraktion angetroffen wurden, sind im Laufe der katalytischen Spaltung aus Peptinvorstufen entstanden, denn sämtliche frei gefundene Aminosäuren wurden als Bestandteile von in früheren Fraktionen isolierten Peptidanhydriden gekennzeichnet. Die Peptidstufe der Katalyse des Keratins hat wieder ihre kompliziertere Vorstufe, welche vielleicht aus Peptinketten oder Peptinzyklen gebaut ist. Außer den Peptinanhydriden konnten wir mit großer Wahrscheinlichkeit auch Piprinanhydride vermuten, welche aus Ketopiperidinringen bestehen und schwer angreifbar sind; sie führen zu höheren Amino- und Diaminosäuren.

Bei Anwendung des katalytischen Verfahrens wurde eine Fülle von Substanzen nachgewiesen, aber man dürfte die meisten von ihnen nicht als Bausteine betrachten. Die eigentlichen Bausteine des Eiweißmoleküls, welche zu ihrer Struktur in unmittelbarster Beziehung stehen, sind nach unserer Ansicht die Peptin-, Piprin-, Prolinringe oder andere noch nicht aufgeklärte zyklische Komplexe, welche nicht nur bis zu den Aminosäuren gespalten werden, sondern auch andere mannigfaltige Umwandlungen erleiden können.

Die weiteren Forschungen auf diesem Gebiete sind im Gange.

## Nachtrag.

Kurz nach dem Erscheinen unserer vorläufigen Mitteilung: „Über Produkte der katalytischen Spaltung von Eiweißstoffen" [der Redaktion zugegangen am 18. Dezember 1922][1]), welche in der Sitzung der Russischen Chemischen Gesellschaft am 2. Februar 1922 vorgetragen

[1]) Diese Zeitschr. **136**, 241, 1923.

worden war, hat *E. Abderhalden* eine Abhandlung: „Über die Struktur der Proteine“ [der Redaktion zugegangen am 23. März 1923][1]) veröffentlicht, wo er über den Nachweis von Peptidanhydriden im Seidenfibroin, Casein und Gliadin berichtet; es wurden folgende Anhydride von ihm angetroffen: Glycyl-d-alanin-anhydrid, l-Leucyl-d-valinanhydrid, l-Phenylalanyl-d-alaninanhydrid, l-Prolyl-glycinanhydrid. Alle diese Substanzen wurden in recht geringen Ausbeuten und unter Anwendung von 70proz. $H_2SO_4$ gewonnen. Aus diesen Befunden schließt *E. Abderhalden*, daß im Eiweißmolekül Diketopiperazine primär vorgebildet sind. Obwohl diese Befunde nur frühere einzelne Beobachtungen von einer Reihe der Autoren über das Vorkommen der Anhydride zwischen den Abbauprodukten von verschiedenen Proteinen bestätigen und keinen neuen Anlaß für die dominierende Bedeutung der Anhydride im Bau des Eiweißmoleküls gaben, äußert *E. Abderhalden* eine Ansicht über die große Rolle der Ringbildungen im Eiweiß. Die Gewinnung eines komplizierten Anhydrids $C_{17}H_{24}N_4O_5$, welches aus 2 Mol. Prolin, 1 Mol. Oxyprolin und Glycin gebaut ist[2]), aus Gänsefedern liefert eine Bekräftigung der von *E. Abderhalden* geäußerten Ansicht. Es ist aber hervorzuheben, daß in seiner letzten Auflage des Lehrbuches der Physiologischen Chemie (5. Auflage, I. Teil, S. 364, 1923) *E. Abderhalden* noch nichts über die große Bedeutung der Ringbindung im Eiweißmolekül aussagt und vielmehr noch auf dem Standpunkte der Polypeptidtheorie bleibt, indem er noch für unsicher hält, ob die Diketopiperazine nicht etwa als sekundäre Abkömmlinge der Dipeptide zu betrachten sind. Unsere Arbeiten haben endgültig bewiesen, daß Anhydride im Bau der Keratine allerdings eine *prävalierende Rolle* spielen und daß die Aminosäuren bei Anwendung der katalytischen Spaltung nur im geringeren Maße auftreten. Es ist sehr erfreulich, daß unsere Forschungen von *E. Abderhalden* so schnell anerkannt sind, aber den *Beweis für die zyklische Struktur der Proteine* kann man nur dem von uns ausgearbeiteten Verfahren der katalytischen Spaltung und der Extraktion des Katalysats mit organischen Extraktionsmitteln aus wässerigen Lösungen des Katalysats zuschreiben. Was aber die Konstitution der einzelnen Anhydride anbetrifft, so ist es selbstverständlich, daß eine endgültige Entscheidung nur durch die Synthese geliefert werden kann.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **128**, 119, 1923.
[2]) Ebendaselbst **129**, 106, 1923.

# Zur Frage des Gehalts an Phosphatiden bei rana temporaria unter dem Einfluß von äußeren Einwirkungen und Vergiftungen. II.

Von

**D. M. Lawrow.**

(Aus dem pharmakologischen Laboratorium des medizinischen Instituts in Odessa.)

*(Eingegangen am 23. Februar 1924.)*

A.

Die hier beschriebene Untersuchung bildet die Fortsetzung meiner im Jahre 1914 angestellten Versuche betreffend den Gehalt an Phosphatiden bei den Fröschen (rana temporaria), welche eine Zeitlang im Laboratorium gehungert hatten (1).

Genauer gesagt, bestimmten wir bei der jetzigen Untersuchung den Phosphor der Phosphatide, und zwar nach der in der ersten Mitteilung beschriebenen Methode.

Für den Versuch bedienten wir uns hier junger Herbstfrösche, Männchen und Weibchen, vom Körpergewicht 35 bis 40 g, welche Ende September gefangen waren. Sie verbrachten im Laboratorium $15\frac{1}{2}$ Monate, ohne etwas zum Essen zu bekommen. Im Laboratorium wurden sie in einem Bassin, und zwar im Kellergeschoß, mit fließendem kalten Wasser, gehalten. Die Sterblichkeit unter den hungernden Fröschen war groß und erreichte schließlich 62 Proz. Die am Leben gebliebenen Tiere waren stark abgemagert, doch waren sie genügend munter. Wie die Obduktion der Frösche zeigte, waren der Magen und Darm der Tiere ganz leer.

Für die Analyse wurden die Frösche mittels der Fleischhackmaschine gründlich zerkleinert. Die zerkleinerten Massen wurden zwecks möglichst guter Zerkleinerung und möglichst voller Vermischung achtmal durch die Maschine gelassen. Auf diese Weise dienten also als Ausgangsmaterial die Frösche in toto mitsamt allen inneren Organen.

Zur Bestimmung des Trockenrückstandes wurden 46,83 g der erhaltenen breiigen Masse entnommen; zur Extraktion der Phosphatide — 637,5 g.

Der Trockenrückstand nach dem Austrocknen bei 105 bis 110° C bis zum konstanten Gewicht betrug 16,8 Proz.

Zur quantitativen Extraktion der Phosphatide wurde die in der ersten Mitteilung beschriebene Methode angewandt. Der Phosphorgehalt der Phosphatide betrug 0,013 Proz. auf die feuchte Masse berechnet, gleich 0,077 Proz. auf die Trockensubstanz berechnet.

Die analytischen Ergebnisse dieser Untersuchung sind in der nachfolgenden Tabelle mit den in der ersten Mitteilung angeführten zusammengestellt. In der Tabelle ist in der Rubrik unter „Phosphor A'" der Prozentgehalt an Phosphor, berechnet auf die feuchten Frösche, angegeben; unter „Phosphor B'" der Phosphorgehalt (in Prozenten), berechnet auf die Trockensubstanz der Tiere.

| | Trockenrückstand Proz. | Phosphor A' Proz. | Phosphor B' Proz. |
|---|---|---|---|
| Frische Frösche . . . . . . . . . . . . | 24,1 | 0,0356 | 0,148 |
| Frösche, die im Laboratorium 5 Wochen verbracht hatten . . . . . . . . . . . | 21,7 | 0,034 | 0,157 |
| Frösche, die im Laboratorium 3 Monate verbracht hatten . . . . . . . . . . . | 20,6 | 0,033 | 0,159 |
| Frösche, die im Laboratorium $7^1/_2$ Monate verbracht hatten . . . . . . . . . . . | 17,4 | 0,026 | 0,151 |
| Frösche, die im Laboratorium (Odessa) $15^1/_2$ Monate verbracht hatten . . . . | 16,8 | 0,013 | 0,077 |

Also ergab es sich, daß der Phosphorgehalt der Phosphatide bei Fröschen, die $15\frac{1}{2}$ Monate im Laboratorium gehungert haben, sehr bedeutend abnimmt.

Es ist bemerkenswert, daß die Abnahme der Phosphatide im Körper der Frösche, welche eine sehr lange Zeit gehungert haben, viel schärfer ausgedrückt ist als der allgemeine Verlust an Trockensubstanzen des Organismus.

## B.

Zur Ergänzung des oben angeführten Versuchsmaterials möchte ich noch das Nachstehende mitteilen. Dieses Material betrifft den Versuch der chronischen Alkoholvergiftung, die an 50 Fröschen, Männchen und Weibchen zu gleichen Teilen, durchgeführt wurde. Die Frösche waren nicht alt, vom Körpergewicht 35 bis 40 g. Der Alkohol wurde in der Form der 25proz., 0,6 Proz. Kochsalz enthaltenden wässerigen Lösung je 2 bis 3 Tage subkutan, und zwar in den Rücken, in den Bauch, in den Oberschenkel eingeführt. Nach dem Einspritzen der Lösung wurden die Frösche während 5 bis 6 Stunden ohne Wasser gelassen. Im allgemeinen wurden sie bei Zimmertemperatur (10 bis 12° R) mit Wasser gehalten.

Zur Kontrolle dienten auch 50 Frösche, die 0,6proz. wässerige Lösung des Kochsalzes auf die angegebene Weise bekommen haben.

In der ersten Periode des Versuchs haben die Alkoholfrösche die Injektionen des Alkohols im allgemeinen gar nicht schwer vertragen; in der zweiten Periode haben sie darauf ziemlich schwer reagiert. Was die Sterblichkeit der Frösche betrifft, so ist diese unter den Kontrolltieren größer als unter den Alkoholtieren gewesen.

Die erste Periode des Versuchs dauerte 30 Tage, indem die Frösche 96,8 ccm absoluten Alkohols, auf 1 kg des Körpergewichts der Tiere berechnet, bekamen. Die zweite Periode dauerte weiter noch 35 Tage. Während dieser Periode wurden noch 132,1 ccm absoluten Alkohols eingeführt, auf 1 kg des Körpergewichts der Tiere berechnet.

Für die Analyse sind 20 Frösche, welche 30 Tage vergiftet wurden — die Frösche der ersten Gruppe — und 20 Frösche, welche 65 Tage Alkohol bekommen hatten — die Frösche der zweiten Gruppe —, genommen. Ebenso wurden auch die Kontrollfrösche analysiert, und zwar in den entsprechenden Mengen.

Die Ergebnisse der Analyse sind in folgender Tabelle zusammengestellt. In dieser Tabelle ist in der Rubrik unter „Phosphor A'“ der Prozentgehalt an Phosphor der Phosphatide, berechnet auf die feuchten Frösche, angegeben. Unter „Phosphor B'“ der Phosphorgehalt (in Prozenten), berechnet auf die Trockensubstanz der Frösche.

| | | Trockenrückstand Proz. | Phosphor A' Proz. | Phosphor B' Proz. | Balance des Körpergewichts g |
|---|---|---|---|---|---|
| Die zur Untersuchung genommenen Frösche . . . | | 20,6 | 0,033 | 0,159 | — |
| Frösche d. 1. Gruppe | Kontrollfrösche | 20,1 | 0,031 | 0,154 | + 0,2 |
| | Alkoholfrösche | 19,4 | 0,032 | 0,165 | + 0,3 |
| Frösche d. 2. Gruppe | Kontrollfrösche | 19,5 | 0,031 | 0,159 | — 4,4 |
| | Alkoholfrösche | 19,3 | 0,018 | 0,093 | — 1,9 |

Also bei dem beschriebenen Versuch zeigte es sich, daß eine chronische Alkoholvergiftung der hungernden Frösche eine Abnahme der Phosphatide verursacht. Bei unserem Versuch war das Sinken der Menge der Phosphatide nach 65 Tagen der Vergiftung ziemlich bedeutend.

Es ist von Interesse zu bemerken, daß der Verlust an Phosphatiden nicht in der ersten Periode des Versuchs, sondern in der zweiten geschehen ist. Auch bei diesem Versuch war der Verlust an Phosphatiden relativ viel größer als der Verlust an Trockensubstanzen.

Der Verlust an Phosphatiden des tierischen Organismus bei der chronischen Alkoholvergiftung ist von mehreren Autoren an den Warmblütern konstatiert. *N. Sieber* (2) hat die Untersuchungen an einer ganzen Reihe von Hunden (15) und Kaninchen (15) gemacht. Den Tieren wurde

Alkohol im Laufe einer Zeitdauer ohne Unterbrechung oder mit Intervallen per os einverleibt. Die Tiere waren bei guter Ernährung und Pflege. Im Resultate dieser Untersuchung ergab es sich, daß diese Intoxikation einen Verlust an Phosphatiden zur Folge hatte. Der mittlere prozentische Verlust an Phosphatiden war in verschiedenen Organen verschieden. Die Verminderung des Phosphatidgehaltes betrug:

| | |
|---|---|
| im Gehirn | 11 Proz. |
| in der Magenschleimhaut | 4,15 „ |
| „ „ Milz | 3,18 „ |
| „ „ Leber | 2,74 „ |
| im Herzen | 2,52 „ |
| in der Lunge | 1,34 „ |
| „ „ Darmwand | 1,10 „ |
| „ „ Magenwand | 0,57 „ |

*A. Baskoff* (3) untersuchte die Leber der mit Alkohol chronisch vergifteten Hunde. Der Autor kommt zum Schluß, daß diese Vergiftung einen die Lecithine der Leber zerstörenden Einfluß ausübt.

Nach *A. Bischoff* (4) verursacht die chronische Alkoholvergiftung der Kaninchen im Herzmuskel einen Verlust an Phosphatiden.

Die Abnahme der Phosphatide in Tierorganen entsteht auch bei verschiedenen Infektionen, wie z. B. bei Syphilis [*G. Peritz* (5)], bei Tuberkulose [*A. Calmette* (6)] usw. Wir berühren hier diese so interessante Frage nicht.

## Literatur.

1) *D. Lawrow*, diese Zeitschr. **62**, 1914. — 2) *N. Sieber*, ebendaselbst **28**. — 3) *A. Baskoff*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 1909. — 4) *A. Bischoff*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therapie **11**. — 5) *G. Peritz*, ebendaselbst **5** u. **8**. — 6) *A. Calmette*, C. r. de l'Acad. des Scienc. **146**, 1908.

# Untersuchungen über das Salzsäure-Lignin.

Von

**Erik Hägglund** und **Carl B. Björkman.**

(Aus dem Institut für Holzchemie der Akademie zu Åbo, Finnland.)

*(Eingegangen am 28. Februar 1924.)*

In einer vorläufigen Mitteilung hat der eine von uns darauf aufmerksam gemacht, daß das mit hochkonzentrierter Salzsäure aus Fichtenholz isolierte Lignin, Salzsäurelignin, unter Einwirkung von verdünnter Säure in der Hitze abwechselnd mit hochkonzentrierter Salzsäure in der Kälte weitgehend in Lösung gebracht werden kann[1]). Dabei entstehen beträchtliche Zuckermengen. Die Vorversuche gaben den Anschein, als ob ausschließlich oder vorwiegend Pentosen in Lösung gingen, da der Zucker mit Hefe versetzt nicht in Gärung kam. Auf Grund der spezifischen Drehung und der Eigenschaften einiger Hydrazone konnte die Anwesenheit von Arabinose als sichergestellt gelten, während Xylose nicht nachgewiesen werden konnte. Da ferner bei der Furfuroldestillation des Ligninrückstandes nach *Tollens* das Phloroglucid zum nicht unerheblichen Teil in Alkohol löslich war, wurde die Annahme gemacht, daß außer Pentosan auch Methylpentosan vorhanden war.

Bei der Fortsetzung dieser Untersuchung haben wir zunächst wiederholt die Feststellung gemacht, daß das Salzsäurelignin in weitgehendem Maße durch Behandlung mit verdünnter und starker Säure in Lösung gebracht werden kann. In Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen haben wir im Hydrolysat Arabinose gefunden. Wir fanden diesmal, und zwar wiederholt, daß außer Arabinose gärfähige Zuckerarten in dem Hydrolysat nachgewiesen werden konnten. Nach Vergärung war in der Lösung nur Arabinose vorhanden. Methylpentosen konnten wir aber nicht nachweisen. Das war nun recht merkwürdig,

---

[1]) *Hägglund*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **56**, 1866, 1923.

denn die Ligninrückstände nach der hydrolytischen Aufspaltung gaben bei der Salzsäuredestillation nach *Tollens* Phloroglucide, welche zum großen Teil alkohollöslich waren. In einigen Fällen, d. h. bei Ligninpräparaten, die während längerer Zeit mit starker Salzsäure in Berührung waren, erwiesen sich die Niederschläge von Phloroglucid vollständig in Alkohol löslich. Sie waren dann rötlichbraun gefärbt. Es erschien daraus recht wahrscheinlich, daß der Niederschlag ausschließlich aus Methylfurolphloroglucid bestand, da bekanntlich Furfurol und Oxymethylfurfurol dunkelgrüne Fällungen mit Phloroglucin geben. Bei einer näheren Untersuchung des Salzsäuredestillats von einer größeren Ligninmenge konnte aber Methylfurfurol nicht nachgewiesen werden, da typische Farbenreaktionen, beispielsweise die Reaktion von *Maquenne*, nicht eintraten. Die Menge und Eigenschaft des Phloroglucidniederschlages steht offenbar in Zusammenhang mit der Darstellungsweise und der weiteren Behandlung des Lignins. Ligninpräparate, die lange in Berührung mit hochkonzentrierter Salzsäure waren, gaben einen Phloroglucidniederschlag, der vollständig in Alkohol löslich war. Die Menge betrug, auf Methylpentosan umgerechnet, bis zu etwa 15 Proz. des Ligningewichts. Eine nähere Untersuchung dieser Frage ist im hiesigen Institut im Gange.

Die erzielten Resultate sind geeignet, die bis jetzt angewandten Bestimmungsmethoden des Methylpentosans im Holz und Lignin richtig zu beleuchten. Es ist offenbar, daß in diesem Falle bei der üblichen Salzsäuredestillation andere flüchtige Substanzen als Furol, Methylfurol oder Oxymethylfurol übergehen, welche in Ähnlichkeit mit diesen Substanzen mit Phloroglucin Niederschläge bilden, die mit Methylfurolphloroglucid durch Farbe und Alkohollöslichkeit übereinstimmen. Schon früher hatte *Schorger*[1]) die Richtigkeit der Methylpentosanbestimmung in Zweifel gezogen. Er führt die Bildung von „Methylfurol" nicht auf Methylpentosane zurück, denn solche dürften nicht vorhanden sein, „da es nicht gelungen ist, aus dem Holz durch Hydrolyse Methylpentosen zu erhalten", sondern auf nicht näher definierte sogenannte „Furoide". Es handelt sich in dem Falle wahrscheinlich ebensowenig um Methylfurol wie bei unseren Versuchen, denn wie gesagt, ist es uns nicht gelungen, aus dem Lignin weder Methylpentosen noch Methylfurol darzustellen.

Die im Vergleich zu früheren Resultaten sehr niedrigen Ligninausbeuten und die starke Gewichtsabnahme bei der Behandlung des Salzsäurelignins mit Säuren waren Fragen, die recht sonderbar erschienen und einer Erklärung bedurften. Die verhältnismäßig niedrige Ligninausbeute schon bei der ersten Ausschüttelung des Holzes mit

---

[1]) Journ. ind. eng. chemistry 9, 562, 1917.

hochkonzentrierter Salzsäure hatte unsere Aufmerksamkeit auf einen mit dem Aufschluß verknüpften Vorgang gerichtet: Bei dem Aufschluß des Holzes mit starker Salzsäure werden sowohl die Rückstände als auch die Salzsäurelösung smaragdgrün gefärbt. Es ist die Vermutung geäußert worden, daß diese Erscheinung auf im Holz vorhandene geringe Mengen von Methylfurol und Coniferin beruht[1]). Wir sind auf Grund der vorliegenden Untersuchung anderer Ansicht. Die Grünfärbung ist sicherlich keine „Spurenreaktion", sondern eine Ligninreaktion, und zwar die Reaktion eines Ligninkohlehydratkomplexes. Kohlenhydratfreies Lignin und selbstverständlich auch von Lignin befreite Kohlenhydrate geben diese Reaktion nicht. Letzteres Lignin wird nämlich von starker Salzsäure (und Schwefelsäure) braun gefärbt, wobei die Säure eine schwach violettbraune Farbe annimmt. Läßt man die bei der Hydrolyse mit starker Salzsäure erhaltene Kohlenhydratlösung stehen, schlägt die Farbe nach verschiedener Zeit je nach der Temperatur von Grün in Violettbraun um, und gleichzeitig scheiden sich in der Lösung hellbraune Flocken aus. Es stellte sich heraus, daß dieser Niederschlag aus kohlenhydratfreiem Lignin bestand.

Man kann sich diesen Vorgang so vorstellen, daß zunächst die in Lösung gegangene Kohlenhydratverbindung unter dem Einfluß der starken Salzsäure in Lignin und Kohlenhydrat gespalten wird, ein Vorgang, der selbstverständlich bei niedriger Temperatur langsamer als bei höherer verläuft. Diese Aufspaltung geht offenbar in hochprozentiger Salzsäure während zweier Tage nicht ganz vollständig zu Ende. In derselben Zeit ist aber der Abbau der Cellulose und anderer Polyosen zu wasserlöslichen Kohlenhydraten beendet, denn die Lösung gibt bei Verdünnung mit viel Wasser keinerlei Trübung. Wird aber diese Lösung auf dem Wasserbade erhitzt, fallen wiederum kleine Mengen von Lignin aus. Daß es sich hier wirklich um Lignin handelt, wurde durch den Gehalt der Substanz an Methoxyl nachgewiesen. Es stellte sich im übrigen heraus, daß dieses Lignin zum größten Teil alkohollöslich war.

Die oben erwähnte Feststellung bringt in Erinnerung eine von *Klason*[2]) gemachte Beobachtung, daß bei der Extraktion von Holzschliff mit Wasser bzw. stark verdünnter Essigsäure außer Kohlenhydraten auch ein dem Lignin nahestehender Körper in Lösung ging.

Die Tatsache, daß aus dem Holze bzw. dem Salzsäurelignin mit hochkonzentrierter Salzsäure beträchtliche Mengen einer Ligninkohlenhydratverbindung in Lösung gebracht werden können, welche

---

[1]) *Grafe*, Monatshefte 25, 1028, 1904; vgl. auch *Ungar*, Dissertation Zürich 1914.

[2]) Arkiv för Kemi 8, Nr. 6, 1908.

später in dem stark sauren Milieu hydrolytisch gespalten werden, ist nach unserer Ansicht der beste Beweis für die *chemische* Bindung zwischen Lignin und Kohlenhydrat im Holze, eine Ansicht, die der eine von uns aus anderen Erwägungen bereits früher vertreten hat[1]). Eine Abspaltung von Kohlenhydrat geschieht sicherlich auch in der festen Phase. An der Oberfläche des Ligninrückstandes bleibt immer eine Schicht kohlenhydratfreies Lignin haften, welches dunkelbraun bis schwarz gefärbt ist, eine Farbe, die dem kohlenhydratfreien Lignin zukommt. Diese Ligninschicht kann mit Alkohol z. B. leicht entfernt werden, worauf die ursprüngliche Farbe wieder zum Vorschein kommt. Die erwähnte Oberflächenerscheinung dürfte wohl der Grund sein, weshalb die Aufspaltung des Ligninrückstandes so stark verzögert wird, daß sie anscheinend bald zum Stillstand kommt. Daß das Salzsäurelignin doch bei *sehr langer* Berührung mit der starken Salzsäure allmählich von Kohlenhydraten befreit wird, geht aus unseren Untersuchungen hervor. Dann ist aber die Farbe durch und durch dunkelbraun bis schwarz gefärbt.

Die Resultate der erwähnten Untersuchungen sind auch für die Ligninbestimmung von Interesse. Es ist offenbar, daß die nach kurzer Behandlung mit hochkonzentrierter Salzsäure verbleibenden Ligninrückstände nicht dem wahren Ligningehalt entsprechen. Der wahre Ligningehalt ist größer. Addiert man aber zu dem Gewicht des Ligninrückstandes die Ligninmengen, welche später ausfallen, nähert man sich dem wahren Ligninwert. Zu bedenken ist aber, daß dann das Lignin in sich noch Kohlenhydrate enthält. Zu einem sicheren Wert kommt man auf alle Fälle, wenn das zu untersuchende Material während längerer Zeit in Berührung mit Salzsäure gestanden hat, z. B. 48 Stunden; ganz exakt ist aber dieser Wert auch nicht, denn es hat sich erwiesen, daß das kohlenhydratfreie Lignin auch eine gewisse Löslichkeit in hochkonzentrierter Salzsäure hat, wobei das, was in Lösung gegangen ist, sogar nicht bei der Verdünnung der Lösung vollständig wieder ausfällt.

Im Anschluß an die oben erwähnten Untersuchungen haben wir die Bildung von Oxalsäure bei der Alkalischmelze des Salzsäurelignins nunmehr feststellen können (Ausbeute 6 Proz.). Wir stellten auch fest, daß Arabinose bei der gleichen Behandlung ebenfalls Oxalsäure gibt.

Die Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd gab Bernsteinsäure in Übereinstimmung mit früheren Versuchen von *Franz Fischer*[2]) und *Holmberg*[3]).

---

[1]) a. a. O.
[2]) Ges. Abh. z. Kenntn. der Kohle 6, 1, 1922.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 56, 2044, 1923.

## Experimenteller Teil.

### 1. *Das Holz.*

Als Ausgangsmaterial wurden Fichtenholzspäne benutzt, gesiebt durch ein Sieb mit 100 Maschen pro Quadratzentimeter. Das Holzmehl wurde mit Aceton und Äther extrahiert und darauf bei 60° getrocknet. Bei der Extraktion wurden von Trockensubstanz des Holzes gerechnet 1,71 Proz. in Lösung gebracht. (Mittel aus zwei Versuchen: 1,73 und 1,69 Proz.) Auf die extrahierte Holzsubstanz wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

*Pentosan* (Bestimmung nach *Tollens*). Die Berechnung des Pentosans geschah nach den Formeln: Furfurol = (Phloroglucid + 0,001) 0,571. Pentosan = Furfurol × 1,375. Menge Phloroglucid aus 1 g Substanz: 1. 0,1277 g, 2. 0,1270 g. *Methoxyl* (Bestimmung nach *Zeisel* und *Stritar*): 1. 4,18 Proz., 2. 4,12 Proz., Mittel 4,15 Proz.

### 2. *Hochkonzentrierte Salzsäure.*

Die Salzsäure wurde hergestellt durch Einleitung von Chlorwasserstoffgas, durch Vergasen von reiner 37 proz. Salzsäure mit konzentrierter Schwefelsäure erhalten, in reine, stark abgekühlte Salzsäure.

### 3. *Die Aufschließungsversuche.*

Die Mengen von Fichtenspan und Salzsäure sind in jedem besonderen Falle unten angegeben. Es erwies sich vorteilhaft, auf 1 g Holz bezogen 30 ccm Säure anzuwenden. Während der Aufschließung wurde der Span mit der Säure häufig geschüttelt. Die ganze Zeit für die Berührung der hochkonzentrierten Säure mit dem Holz betrug einschließlich der Filtration 30 bis 45 Minuten bei etwa 10 bis 15° C. Die Filtration geschah wie früher über Quarzsand. Das Filtrat ging vollkommen klar durch. Die Waschung mit hochkonzentrierter Säure wurde so lange fortgesetzt, bis das Filtrat vollkommen wasserhell war. Darauf wurde mit immer schwächeren Säuren und zuletzt mit heißem Wasser gewaschen, bis mit Silbernitrat keine Cl-Reaktion mehr eintrat. Die Trennung des Lignins vom Quarzsand wurde durch wiederholte Schlämmung ausgeführt. Zuletzt wurde das Lignin mit Alkohol und Äther gewaschen und bei 55° getrocknet.

## Versuchsreihe 1.

### *Lignin A.*

Die Salzsäurekonzentration entsprach dem spezifischen Gewicht 1,23 bei 0°. Die *Ligninausbeute* war 24,9 Proz. *Kupferzahl:* 10,5 (nach der Methode von *Hägglund*).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Pentosan* . . . . . | 1. 4,7 Proz. | 2. 4,8 Proz. | Mittel | 4,75 Proz. |
| „*Methylpentosan*“[1] | 1. 6,7 „ | 2. 6,4 „ | „ | 6,55 „ |

Hydrolyse 1 des Lignins A mit verdünnter Säure.

25 g Lignin wurden mit 5 proz. Schwefelsäure auf dem Wasserbade während 3 Stunden erhitzt. Die Lösung wurde abfiltriert und der Rückstand mit neuer Schwefelsäure behandelt. Die Hydrolyse wurde so lange fortgesetzt, bis keine Reduktion mehr von *Fehling*scher Lösung eintrat. Die Resultate gehen aus den folgenden Zahlen hervor:

---

[1]) Wie in späteren Versuchen nachgewiesen werden soll, handelt es sich hier nicht um Methylpentosan, obwohl der Phloroglucidniederschlag alkohollöslich ist.

Auskochung:

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Zucker in Prozenten des ursprünglichen Ligningewichtes: | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5,8 | 2,0 | 1,1 | 0,6 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,0 |

Summe: 12,5 Proz.

Das Ligningewicht nach der Hydrolyse 18,3093 g. Gewichtsverlust: 26,8 Proz.

**A. Untersuchung des hydrolysierten Lignins.**

*Kupferzahl* . . . . . . . . . . . . . . 8,1 Proz.
*Pentosan* . . . . . . . . . . . . . . . 3,1 „
„*Methylpentosan*“ . . . . . . . . . . . 5,2 „

*Aufschluß des hydrolysierten Lignins mit starker Salzsäure.*

Versuch 1.

2 g hydrolysiertes Lignin wurden mit 100 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,215 bei 0° während 1 Stunde behandelt. Darauf wurde mit hochkonzentrierter Säure, Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und bei 55° getrocknet. Das Ligningewicht nach der Behandlung 1,47 g. Gewichtsverlust 26,5 Proz. Der Rückstand wurde auf Pentosan untersucht: 4,6 Proz. „*Methylpentosan*“: 3,1 Proz. Der Zuckergehalt der Lösung betrug 0,3328 g = 16,6 Proz.

Versuch 2.

5 g hydrolysiertes Lignin wurden mit 150 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,22 bei 0° wie im Versuch 1 behandelt. Der ungelöste Rückstand wog 3,7486 g. Gelöst wurden also 25,0 Proz. Die Lösung wurde auf 1000 ccm verdünnt und auf dem Wasserbade 3 Stunden erwärmt. Bei der Verdünnung entstand ein Niederschlag, welcher während der Erhitzung unter Dunkelfärbung sich zusammenflockte. Das Reduktionsvermögen der Lösung wurde während der Erhitzung nicht verändert. Die Zuckerausbeute betrug 0,845 g, was 16,9 Proz. des hydrolysierten Lignins entspricht.

Versuch 3.

α) *Behandlung mit starker Salzsäure.* 2 g hydrolysiertes Lignin wurden mit 100 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,22 bei 0° wie in den Versuchen 1 und 2 behandelt. Der Rückstand wog 1,3860 g. 30,7 Proz. waren also in Lösung gegangen. Die Zuckermenge betrug dabei 0,371 g oder 18,5 Proz. des Ligningewichtes.

β) *Behandlung des Rückstandes von α mit 3proz. Salzsäure.* 1,1648 g des Rückstandes von α wurden mit 50 ccm 3proz. Salzsäure während 3 Stunden auf siedendem Wasserbade erhitzt. Der Rückstand wog 1,0459 g. 0,1189 g waren also in Lösung gegangen (10,2 Proz.). Die Gesamtzuckermenge betrug 0,0128 g (1,1 Proz.).

γ) *Behandlung des Rückstandes von β mit starker Salzsäure.* 0,9889 g wurden mit 130 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,22 bei 0° während 1 Stunde behandelt. Gewichtsverlust: 0,0507 g (5,1 Proz.). Die Zuckermenge betrug 0,009 g (0,9 Proz.).

δ) *Behandlung des Rückstandes von γ mit starker Salzsäure.* Die Behandlung geschah in ähnlicher Weise wie im vorigen Versuch. Der Gewichtsverlust betrug 4,4 Proz. und die Zuckermenge 0,9 Proz.

*Zusammenfassung der Resultate von der Hydrolyse des Lignins A.*

| | Proz. des Holzgewichts |
|---|---|
| a) Ausbeute von Salzsäurelignin | 24,9 |
| b) Ligninrückstand nach der Hydrolyse von a mit 5proz. Schwefelsäure | 18,2 |
| c) Rückstand nach der Behandlung von b mit starker Salzsäure: 1. 13,4, 2. 13,6, 3. 12,6 | 13,2 |
| d) Rückstand c 3, mit verdünnter Salzsäure behandelt | 11,9 |
| e) Rückstand d zweimal mit starker Salzsäure behandelt | 10,8 |

Die Gesamtabnahme des Ligningewichtes a bis e = 24,9 — 10.8 = 14,1 Proz. Die analytisch nachgewiesene Zuckermenge, die diesem Gewichtsverlust entspricht, beträgt 3,1 + 3,1 + 0,15 + 0,21 = 6,56 Proz. des Holzgewichtes.

**B. Untersuchung der Lösung nach der Hydrolyse des Salzsäurelignins A mit 5proz. Schwefelsäure.**

Die Fraktionen (S. 79) wurden gesammelt. Die Schwefelsäure wurde mit $BaCO_3$ abgestumpft und entfernt. Die neutralisierte Lösung wurde auf 500 ccm eingedampft. $[\alpha]_D = +40{,}0^0$. Die Lösung wurde in zwei Teile geteilt und mit Hefe vergoren. Nach der Gärung war in einem Falle $[\alpha]_D = +103{,}9^0$ und im anderen $[\alpha]_D = 104{,}0^0$.

Hydrolyse 2 des Lignins A mit verdünnter Säure.

25 g Lignin wurden mit 100 ccm 3proz. Schwefelsäure am Rückflußkühler *gekocht*. Fünf Fraktionen wurden aufgenommen, mit $BaCO_3$ neutralisiert und auf 100 ccm eingedampft. Diese Lösung wurde auf Zucker untersucht: 1,779 g. $[\alpha]_D = 46{,}6^0$. Die Lösung wurde mit Hefe vergoren. Unvergorene Menge Zucker: 0,0455 g. $[\alpha]_D = 105{,}5$.

**Versuchsreihe 2.**

*Lignin B.*

Das Lignin wurde, wie angegeben, aus 10 g Holzmehl hergestellt. Die Ausbeute betrug 26,1 Proz. *Pentosan* 4,8 Proz. „*Methylpentosan*“ = 1,5 Proz.

Hydrolyse des Lignins B mit verdünnter Säure.

2 g Lignin wurden mit 50 ccm 3proz. Salzsäure auf dem Wasserbade während 3 Stunden erhitzt. Dieser Vorgang wurde zehnmal mit neuer Salzsäure wiederholt. Die Gewichtsabnahme des Lignins betrug 33,7 Proz. und die Zuckermenge 15,6 Proz. des Salzsäurelignins.

**A. Untersuchung des hydrolysierten Lignins.**

*α) Behandlung mit starker Salzsäure.* 1,3066 g wurden mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,22 bei 0° während 1 Stunde behandelt. Das Filtrat blieb 44 Stunden stehen. Darauf wurde Zuckerbestimmung ausgeführt: 0,061 g Zucker. Nach Verdünnung entstand ein weißgrauer Niederschlag. Ohne die Fällung abzufiltrieren, wurde die Lösung auf dem Wasserbade während 3 Stunden erhitzt. Dabei wurde die Fällung dunkel gefärbt. Der Zuckergehalt wurde wiederum ermittelt: 0,068 g Zucker, also im wesentlichen ebensoviel wie vor der Erhitzung. Zuckerausbeute: 5,2 Proz. Die Gewichtsabnahme des Lignins betrug 8,9 Proz.

*β) Behandlung des Rückstandes von α mit verdünnter Schwefelsäure.* 1,0123 g wurden mit 50 ccm siedender 3proz. Schwefelsäure fünfmal nacheinander behandelt. Die Gesamtzuckermenge betrug 0,0246 g = 2,43 Proz. Von dem Lignin waren gleichzeitig 7,8 Proz. in Lösung gegangen.

*Zusammenfassung der Resultate von der Hydrolyse des Lignins A.*

| | Proz. des Holzgewichtes |
|---|---|
| a) Ausbeute von Salzsäurelignin | 26,1 |
| b) Ligninrückstand nach der Hydrolyse von a mit 3proz. Schwefelsäure | 17,3 |
| c) Rückstand nach der Behandlung von b mit starker Salzsäure | 15,8 |
| d) Rückstand nach der Behandlung von c mit verdünnter Schwefelsäure | 14,6 |

Die Gesamtabnahme betrug in diesem Falle 11,5 Proz. des Ligningewichtes. Es ist wahrscheinlich, daß es möglich gewesen wäre, bei fortgesetzter Behandlung des Lignins noch etwas in Lösung zu bringen. Die Zuckermenge, welche dieser Gewichtsabnahme entspricht, betrug: 4,1 + 0,9 + 0,4 = 5,4 Proz. des Holzgewichtes.

## B. Untersuchung der Lösung nach der Hydrolyse des Salzsäurelignins B mit verdünnter Salzsäure.

Nach Abstumpfung mit Natriumbicarbonat und Eindampfung betrug $[\alpha]_D$ = 103,3. Bei Zusatz von Hefe trat keine Gärung ein. Die spezifische Drehung blieb unverändert.

## Versuchsreihe 3.

*Lignin C.*

Von 100 g Holz wurde die Ausschüttelung mit Salzsäure in zwei Teilen von je 50 g ausgeführt, und zwar mit 1500 ccm Salzsäure für jede Portion. *Ausbeute*: 1. 22,4 Proz., 2. 22,3 Proz. *Cu-Zahl*: 5,3. *Methoxyl*: 13,6 Proz.

Hydrolyse 1 des Lignins C.

*α) Behandlung mit starker Salzsäure.* 1 g Lignin wurde mit 100 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,22 bei 0° während 1 Stunde behandelt. Nach Filtration im Goochtiegel, Auswaschung und Trocknung wurde ein Rückstand von 0,8176 g erhalten. Die Lösung war im Anfang grün gefärbt, wurde aber mit der Zeit dunkel. In Lösung waren gegangen 18,2 Proz. Nach 14 Stunden wurde sie auf 500 ccm verdünnt. Dabei fiel ein feinflockiger Niederschlag aus. In der Lösung betrug die Zuckermenge 0,135 g = 13,5 Proz. Die Lösung wurde auf eine Konzentration von 10 Proz. verdünnt und während 3 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Nach der Erhitzung war die Zuckermenge unverändert geblieben.

*β) Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure.* 0,7695 g des Rückstandes nach α wurden mit 50 ccm 5proz. Schwefelsäure während 6 Stunden behandelt. Sieben Fraktionen wurden aufgenommen. Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

| Fraktion | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | Summe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Zucker | 3,73 | 1,31 | 1,10 | 0,87 | 0,66 | 0,44 | 0,44 | 8,55 Proz. |

Sämtliche Fraktionen wurden zusammengetan, und darin wurde der Zucker bestimmt: 0,0648 g = 8,4 Proz.; also in guter Übereinstimmung mit dem obigen Wert. Von dem Lignin blieb ein Rückstand von 0,6269 g zurück. Das entspricht einem Gewichtsverlust von 18,5 Gewichtsprozenten.

In diesem Falle wurden also erhalten:

| | Proz. des Holzgewichtes |
|---|---|
| a) Salzsäurelignin | 22,4 |
| b) Rückstand nach der Behandlung von a mit starker Salzsäure | 18,3 |
| c) Rückstand nach der Behandlung von b mit 5proz. Schwefelsäure | 14,9 |

Der Gewichtsverlust a bis c = 7,5 Proz. Das entspricht einer Zuckermenge von 4,6 Proz.

Bei der Extraktion von c mit heißem Alkohol während 30 Stunden gingen 6,1 Proz. in Lösung. In dem Rückstand wurde der Methoxylgehalt bestimmt 14,6 Proz. (14,4 und 14,8 Proz.) $CH_3O$.

Aus dieser Zahl, mit dem Methoxylgehalt des Salzsäurelignins verglichen, geht hervor, daß Methoxylreste vom Lignin abgespalten sind bzw. daß das Lignin teilweise in Lösung gegangen ist. Würde das nicht der Fall sein, so würde selbstverständlich der Rückstand c einen bedeutend höheren Gehalt an Methoxyl aufweisen.

### Hydrolyse 2 des Lignins C.

*α) Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure.* 1 g Lignin wurde mit 50 ccm 5proz. Schwefelsäure während 6 Stunden behandelt. Danach wurde die Schwefelsäure mit neuer ersetzt usw. 13 Fraktionen wurden aufgenommen. Dabei wurden insgesamt 13,3 Proz. Zucker erhalten. (In einem Kontrollversuch 13,1 Proz.) Von dem Lignin blieb schließlich ein Rückstand von 0,7359 g zurück. 26,4 Proz. waren also in Lösung gegangen.

*β) Behandlung des Rückstandes nach α mit starker Salzsäure.* 0,6708 g des Rückstandes nach α wurden mit 100 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,22 bei 0° während 1 Stunde behandelt. Der Gewichtsverlust betrug 6,2 Proz. Die Lösung zeigte reduzierende Eigenschaften. Wurde die Salzsäurelösung mit Wasser verdünnt, trat eine grauweiße Fällung ein in geringer Menge. Wurde dieser Niederschlag mit starker Salzsäure behandelt, wurde ein dunkelgefärbter Rückstand erhalten, während ein anderer Teil verzuckert wurde.

### Hydrolyse 3 des Lignins C.

25 g Lignin wurden wiederholt mit je 500 ccm 5proz. Schwefelsäure während 6 Stunden hydrolysiert. Dabei wurden 11,9 Proz. Zucker aus 16 Fraktionen erhalten. Das Ligningewicht nahm gleichzeitig mit 4,9 g oder 19,6 Proz. ab. Die Hydrolyseflüssigkeit wurde mit Bariumcarbonat fast neutralisiert und von 8 Liter auf 500 ccm eingedampft. Die Lösung wurde mit Hefe versetzt, wobei zwei Drittel des Zuckers vergoren wurden.

$[\alpha]_D = + 51,8^0$ vor der Gärung.

$[\alpha]_D = + 102,0^0$ nach der Gärung.

In einem Kontrollversuch:

$[\alpha]_D = + 104,4^0$ nach der Gärung.

Die Lösung zeigte in einem Kontrollversuch deutlich die Pentosenreaktionen mit Orcinsalzsäure und die Reaktion von *Rosenthaler*[1]) mit Aceton und Salzsäure. Dagegen konnten Methylpentosen mit der Reaktion von *Rosenthaler* nicht nachgewiesen werden.

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. 48, 165, 1909.

**Versuchsreihe 4.**

Lufttrockenes, entsprechend 40 g absolut trockenem, Holzmehl wurde während 30 Minuten bei einer Temperatur von etwa — 5° mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,23 (bei 0°) behandelt und wie früher über Quarzsand abfiltriert. Die Ausbeute war aber diesmal, vermutlich wegen der niedrigen Temperatur der Behandlung, nur 44 Proz., weshalb der Rückstand mit einer neuen Portion frischer Salzsäure behandelt wurde. Die filtrierte Kohlenhydrat-Salzsäurelösung war im Anfang smaragdgrün gefärbt. Nachdem sie einige Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, ging die Farbe allmählich in Violettbraun über, während braune Flocken nach und nach ausfielen. Nach einem Tage, als die gelösten Kohlenhydrate wasserlöslich waren, wurde die ganze Lösung mit Wasser verdünnt, der Niederschlag abfiltriert und die Salzsäure vollständig ausgewaschen. Bei der Behandlung des Ligninniederschlages mit Alkohol ging ein Teil in Lösung, welcher bestimmt wurde.

Bei der erneuerten Behandlung des Holzrückstandes mit Salzsäure zeigte die Lösung dieselben Eigenschaften wie bei der ersten Ausschüttelung. Auch diesmal wurde das aus der Lösung ausgefällte Lignin bestimmt. Die Resultate gehen aus den folgenden Zahlen hervor:

| | Salzsäure-lignin g | Ausgefallenes Lignin alkohol-lösliches g | Ausgefallenes Lignin alkohol-unlösliches g |
|---|---|---|---|
| Ausschüttelung 1 | — | 0,3216 | 0,9900 |
| „ 2 | 9,5695 | 0,0565 | 0,2944 |
| Ligninausbeute | 9,5695 | 0,3781 | 1,2844 |
| Ligninausbeute in Prozenten des Holzgewichtes (extrahiert) | 23,92 | 0,95 | 3,21 |

Die Gesamtausbeute an Lignin betrug also 28,08 Proz. Die verschiedenen Lignine wurden auf ihren Gehalt an Methoxyl untersucht:

Methoxylbestimmung.

| | $CH_3O$ Proz. |
|---|---|
| Salzsäurelignin (von der 2. Ausschüttelung) | 12,60 |
| Ausgefallenes Lignin: | |
| a) Alkoholunlösliches | 14,23 |
| b) Alkohollösliches: | |
| Bestimmung 1 | 14,55 |
| „ 2 | 14,42 |

Aus diesen Zahlen ergibt sich auch, daß das Salzsäurelignin methoxylarme bzw. methoxylfreie Substanzen enthalten muß.

### Hydrolyse des Salzsäurelignins.

5 g Salzsäurelignin wurden viermal während je 3 Stunden mit 200 ccm 3proz. Schwefelsäure auf dem Wasserbade hydrolysiert. Die Zuckermenge betrug 0,1894 g. Nach Abstumpfung mit Bariumcarbonat und Eindampfung auf 100 ccm wurde wieder der Zucker bestimmt: 0,1459 g. $[\alpha]_D = 65{,}1^\circ$.

**Hydrolyse des ausgefällten und alkoholunlöslichen Lignins.**

0,3694 g des aus der Salzsäurelösung ausgefällten Lignins wurden während 48 Stunden mit 5proz. Schwefelsäure hydrolysiert. Nach Abstumpfung und Eindampfung zu 25 ccm konnte *kein Zucker* nachgewiesen werden.

*Furfuroldestillation nach Tollens.*

Die Ergebnisse der Untersuchung gehen aus folgender Tabelle hervor:

| | Eingewogene Substanzmenge | Phloroglucid | | | | Pentosan, bezogen auf alkoholunlösliches Phloroglucid |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Gesamtmenge | alkoholunlösliches | alkohollösliches | Löslichkeit | |
| | g | g | g | g | Proz. | Proz. |
| Salzsäurelignin . . . . . . | 0,3121 | 0,0240 | 0,0170 | 0,0070 | 29,2 | 4,5 |
| Hydrolys. Salzsäurelignin . | 0,8226 | 0,0418 | 0,0079 | 0,0339 | 81,1 | 0,8 |
| Hydrolys. Salzsäurelignin, mit Salzsäure v. 45 Gew.-Proz. ausgeschüttelt . . . | 0,6153 | 0,0317 | 0,0066 | 0,0251 | 79,2 | 1,0 |
| In Alkohol unlösliches ausgefallenes Lignin . . . . | 0,2517 | 0,0090 | — | 0,0090 | 100 | — |
| Desgl., hydrolysiert . . . . | 0,2912 | 0,0140 | — | 0,0140 | 100 | — |

Hier sei erwähnt, daß Salzsäurelignin, welches positive Pentosanreaktion zeigte, d. h. einen alkoholunlöslichen, dunklen Phloroglucid gab, im Mikroskop betrachtet, mit hochkonzentrierter Salzsäure eine *grüne* Farbe annahm, während pentosanfreies Lignin unter denselben Bedingungen *dunkelbraun* gefärbt wurde.

*Behandlung des hydrolysierten Salzsäurelignins mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,23 (bei 0°).*

2,2166 g vollständig trockenes, hydrolysiertes Salzsäurelignin wurden während 30 Minuten mit Salzsäure von oben angegebener Stärke behandelt. Der Ligninrückstand wog nach der Behandlung 2,1329 g. In Lösung war demnach 0,0837 g gegangen. Die Lösung blieb 24 Stunden stehen. Schon während dieser Zeit entstand eine Fällung, welche nach der Verdünnung mit Wasser abgetrennt wurde. Gewicht: 0,0141 g. In der Lösung wurde nachher nach Neutralisation und Eindampfung, wobei Alkohol zur Entfernung des Kochsalzes zugesetzt wurde, der Zucker bestimmt: 0,0105 g. Die Lösung gab deutlich die Orcinreaktion auf Pentosan. Auf dem ausgeschiedenen Lignin wurde Methoxylbestimmung ausgeführt: 15,7 Proz.

## Versuchsreihe 5.

*Untersuchung von Lignin, welches durch Behandlung von Holz mit hochkonzentrierter Salzsäure während längerer Zeit erhalten wurde.*

### Versuch 1.

Zwei Flaschen wurden mit je 5 g (absolut trocken berechnet) Holzmehl und 250 ccm Salzsäure (vom spezifischen Gewicht 1,23 bei 0°) beschickt und nachher öfters geschüttelt. Die Versuchstemperatur war etwa 15° und die Dauer der Einwirkung betrug 36 Stunden. Nach dieser Zeit wurde die Lösung mit der doppelten Menge Wasser verdünnt und das Lignin durch Zentrifugieren quantitativ abgetrennt. Das Lignin wurde in den Zentrifugenröhrchen zweimal mit hochkonzentrierter Salzsäure gewaschen. Dabei ging ein Teil des Lignins in Lösung, wobei letztere eine braunviolette

Farbe annahm. Diese Lösung blieb während 48 Stunden stehen. Während dieser Zeit entstand eine Fällung, deren Menge bestimmt wurde. Nachdem das Lignin in oben erwähnter Weise mit hochkonzentrierter Salzsäure zweimal behandelt war, wurde in beiden Fällen das Lignin mit Wasser vollständig ausgewaschen. In dem einen Falle wurde das Lignin unmittelbar mit Alkohol und Äther behandelt und das, was gelöst wurde, ermittelt. Das Lignin, welches nur mit Wasser behandelt wurde, war bedeutend dunkler als das mit Alkohol gewaschene. Die Resultate gehen aus folgender Tabelle hervor:

| | Lignin 1 g | Lignin 2 g |
|---|---|---|
| Ligninrückstand nach zweimaliger Behandlung . . | 1,3195 | 1,3693 |
| Alkohollösliches Lignin . . . . . . . . . . . . . . . | 0,0511 | — |
| Lignin, ausgefallen nach der zweiten Behandlung mit Salzsäure . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,0166 | 0,0174 |
| Gesamtmenge des Lignins . . . . . . . . . . . . . | 1,3872 | 1,3867 |
| Desgl. in Prozenten des Holzgewichtes . . . . . . | 27,74 | 27,73 |

Sowohl von Lignin 1 und 2 wurde 1 g mit 100 ccm hochkonzentrierter Salzsäure behandelt (bei Zimmertemperatur). Die Rückstände wurden quantitativ abzentrifugiert. Die Salzsäurelösung blieb 48 Stunden stehen, wobei ein Niederschlag entstand, welcher ebenfalls durch Zentrifugieren abgeschieden und bestimmt wurde. In der klaren Lösung, die von Lignin 1 stammte, wurde die Reduktionsfähigkeit bestimmt. Sie war aber, wie die folgenden Zahlen zeigen, recht schwach.

| | Lignin 1 | Lignin 2 |
|---|---|---|
| Ligninrückstand nach der Behandlung mit Salzsäure g | 0,8848 | 0,9068 |
| Ligninmenge in Lösung gegangen . . . . . . . . g | 0,1152 | 0,0932 |
| Desgl. in Prozenten des Ligningewichtes . . . . . . | 11,52 | 9,32 |
| Ausgefallene Menge Lignin aus der Salzsäurelösung g | 0,0159 | 0,0210 |
| Zucker in der Lösung . . . . . . . . . . . . . . . g | (0,008) | — |
| Pentosen in der Salzsäure (alkoholunlöslicher, dunkler Niederschlag mit Phloroglucin) . . . . . . . . g | — | (0,0056) |
| Verdampfungsrückstand der Salzsäurelösung (nach der Furoldestillation) . . . . . . . . . . . . . g | — | 0,0551 |
| Summe Wiedergefundenes . . . . . . . . . . . . g | — | 0,0817 |

Die Lignine 1 und 2 vor und nach der Behandlung mit hochkonzentrierter Salzsäure wurden mit 12proz. Salzsäure nach *Tollens* destilliert.

Die Resultate gehen aus folgender Tabelle hervor:

| | Eingewogene Substanzmenge g | Phloroglucid g |
|---|---|---|
| Lignin 1 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,3153 | 0,0109 |
| „ 2 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,3687 | 0,0200 |
| „ 1 mit hochkonzentr. Salzsäure behandelt | 0,8848 | 0,0726 |
| „ 2 „ „ „ „ | 0,9068 | 0,0807 |

Die Phloroglucidniederschläge erwiesen sich sämtlich alkohollöslich. Deshalb erscheint die in vorhergehender Tabelle erwähnte Ausbeute von Zucker bzw. Pentosen zweifelhaft.

Versuch 2.

30 g Holz von derselben Beschaffenheit wie im vorigen Versuch wurden während 48 Stunden mit 1000 ccm 45proz. Salzsäure bei Zimmertemperatur behandelt. Die Lösung wurde nachher mit Wasser verdünnt, wobei keinerlei Ausfällung von Kohlenhydraten eintrat; das Lignin wurde abfiltriert, vollständig von Salzsäure ausgewaschen, mit Alkohol und zum Schluß mit Äther nachbehandelt.

Lignin. . . . . . . . . . . 8,1804 g
Alkohollösliches Lignin . . 0,2381 g

Summe . . 8,4185 g oder 28,06 Proz.

Aus der Kohlenhydratlösung fielen nach einigen Tagen, was durch Erhitzung der Lösung auf dem Wasserbade vervollständigt wurde, 0,0355 g Lignin aus. Methoxylgehalt 14,07 Proz. Bei der Destillation nach *Tollens* wurden aus 0,4322 g Substanz 0,0307 g Phloroglucid erhalten. Alles war in Alkohol löslich. Bei der Hydrolyse von 5 g des Lignins wurde 0,1 g Zucker erhalten, entsprechend etwa 2 Proz. des Lignins. Im Hydrolysat konnten Pentosen mit Orcinsalzsäure nicht nachgewiesen werden. Die Lösung nach der Eindampfung zeigte deutliche Rechtsdrehung.

Versuch 3.

Lufttrockenes Holz, entsprechend 30 g absolut trockener Substanz, wurde wie im vorigen Versuch behandelt.

Lignin. . . . . . . . . . . 8,1436 g
Alkohollösliches Lignin . . 0,3024 g

Summe . . 8,4460 g oder 28,15 Proz. der Holzsubstanz.

In dem verdünnten Filtrat wurde auch diesmal eine Fällung erhalten: 0,0437 g, wovon 0,0381 g alkohollöslich waren. 5 g des Lignins wurden mit 5proz. Schwefelsäure während 8 Stunden auf das Wasserbade hydrolysiert: 0,036 g Zucker oder etwa 0,7 Proz. des Ligningewichtes. Gewicht des Ligninrückstandes nach der Hydrolyse 4,7404 g. Vor und nach der Hydrolyse wurde das Lignin der Salzsäuredestillation unterworfen:

| | Eingewogene Substanzmenge g | Phloroglucidmenge g |
|---|---|---|
| Lignin vor der Hydrolyse . . . . . . . . . . | 1,0104 | 0,0631 |
| „ nach „ „ . . . . . . . . . . | 1,0304 | 0,0662 |

Die Phloroglucidniederschläge erwiesen sich vollständig in Alkohol löslich.

Versuch 4.

Als Ausgangsmaterial wurde diesmal technisches Lignin verwendet. Eine Vorprüfung zeigte, daß dieses Lignin bei der Salzsäuredestillation nur einen alkohollöslichen Niederschlag mit Phloroglucin gab. Bei dem Hauptversuch wurden 200 g technisches Lignin mit 12proz. Salzsäure destilliert. Die Menge des Destillates war 2500 ccm. Nach fast vollständiger Abstumpfung der Salzsäure und nach Zusatz von einem Überschuß von Kochsalz wurde ein kleinerer Teil der Flüssigkeit abdestilliert. Weder in der Lösung noch im Destillat konnte Methylfurol mit Anilinacetat und Salzsäure, mit Alkohol und Schwefelsäure (Reaktion von *Maquenne*) und mit Aceton und Salzsäure (Reaktion von *Rosenthaler*) nachgewiesen werden.

### Versuchsreihe 6.

*Kalischmelze des Salzsäurelignins.*

Versuch 1.

25 g Kaliumhydroxyd und 12 g Wasser wurden in einem Eisentiegel auf 200° erhitzt. Zu der Schmelze wurden 4 g hydrolysiertes Lignin von der Versuchsreihe 1 während einer halben Stunde allmählich zugesetzt, während die Temperatur gleichzeitig auf 270° gesteigert wurde. Die Schmelze wurde dann in Wasser gelöst und angesäuert. Dabei wurde ein Niederschlag erhalten in einer Menge von 30,3 Proz. des Ligningewichtes. In der Lösung wurde *Oxalsäure* als Oxalat mit Ca-Acetat gefällt. Der Niederschlag wurde gelöst und wiederum gefällt. Die Bestimmung geschah sowohl gravimetrisch als durch Titration mit Permanganat. Im ersteren Falle wurden 6,6 Proz., im letzteren 6,2 Proz. Oxalsäure vom Ligningewicht erhalten.

Versuch 2.

Die Alkalischmelze wurde wie im vorigen Versuch mit hydrolysiertem Lignin von der Versuchsreihe 3 ausgeführt. Der nach der Ansäuerung erhaltene Niederschlag betrug 1,2 g = 30 Proz. Die Oxalsäure wurde titrimetrisch bestimmt: 5,5 Proz. des Ligningewichtes. Ein Kontrollversuch gab den Wert 5,6 Proz. Oxalsäure.

Versuch 3.

Reine Arabinose wurde in obenerwähnter Weise mit Alkali geschmolzen. In einem Falle wurden 12,3 Proz., in einem anderen 17,7 Proz. Oxalsäure erhalten.

### Versuchsreihe 7.

*Oxydation von Lignin mit Wasserstoffsuperoxyd.*

5 g hydrolysiertes Lignin (von der Versuchsreihe 3) wurden unter Rückfluß mit 25 ccm Wasser und 25 ccm 30proz. Wasserstoffsuperoxyd erhitzt. Zu jeder Stunde wurden noch 25 ccm Wasserstoffsuperoxyd zugetan, bis 100 ccm zugesetzt waren. Nach weiteren 2 Stunden wurden schließlich 25 ccm Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt. Im Laufe der Oxydation wurde die Lösung gelb gefärbt und die schwammige Ligninmasse ging allmählich in Lösung (nach 13 Stunden). Die Erhitzung wurde nach 22 Stunden abgebrochen, als die Gasentwicklung aufgehört hatte. Die Lösung war nunmehr nur schwach gelb gefärbt. Die Lösung wurde auf dem Wasserbade bei 16 mm Druck zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst und nochmals zur Trockenheit gebracht. Der Rückstand wurde nachher bei einem Druck von 4 mm trockendestilliert, wobei die Temperatur allmählich auf 175° gesteigert wurde. Die Temperatur und der Druck wurden während 2 Stunden konstant gehalten. Im Kolben und in dem Kühler setzte sich dabei ein kristallinisches Sublimat ab. Der Schmelzpunkt war unscharf und betrug 108 bis 114°. Der Mischschmelzpunkt mit Bernsteinsäureanhydrid war 113 bis 117°. Wir können dadurch die Resultate von *Holmberg*[1]) und *Franz Fischer*[2]) bestätigen, welche Forscher bereits früher Bernsteinsäure als Oxydationspunkt von anderen Ligninprodukten nachgewiesen haben.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1923, S. 1866.

[2]) Abh. z. Kenntnis der Kohle 6, 1, 1922.

**Zusammenfassung.**

1. Durch Behandlung von Fichtenholz in feinverteilter Form mit hochkonzentrierter Salzsäure während verhältnismäßig kurzer Zeit vorzugsweise bei niedriger Temperatur wird ein Rückstand, Salzsäurelignin, erhalten in Ausbeuten, welche in erster Linie von der Konzentration und Menge der Salzsäure abhängig sind, sofern nämlich die Abtrennung des Ligninrückstandes geschieht, bevor die Abscheidung von Substanzen erfolgt, die im Anfang gelöst werden. Bei den vorliegenden Versuchen schwankten die in dieser Weise erhaltenen Ausbeuten zwischen 22,3 und 26,1 Proz. des Gewichtes des mit Acetonäther erschöpfend extrahierten Holzes.

2. Das in obenerwähnter Weise isolierte und ausgewaschene Salzsäurelignin wird bei erneuerter Behandlung mit hochkonzentrierter Salzsäure zum Teil gelöst. In der Lösung können erhebliche Zuckermengen nachgewiesen werden. Auch bei der Behandlung solchen Lignins mit verdünnten Säuren in der Hitze gehen große Zuckermengen in Lösung. Durch abwechselnde Behandlung mit hochkonzentrierter Säure in der Kälte und verdünnten Säuren in der Hitze war es möglich, mehr als die Hälfte des Ligningewichtes in Lösung zu bringen.

3. Die bei der Hydrolyse des Salzsäurelignins gebildeten Zuckerarten haben verschiedene Zusammensetzung. In vielen Fällen war der Zucker teilweise vergärbar. Der unvergärbare Teil bestand allem Anschein nach nur aus Arabinose. Methylpentosen konnten nicht nachgewiesen werden.

4. Die sogenannte „Furoldestillation" von Salzsäurelignin gibt, wenn das Lignin unter den in Punkt 1 angegebenen Bedingungen isoliert wurde, sowohl einen alkoholunlöslichen Phloroglucid, welcher zweifellos aus Furolphloroglucid besteht und das Vorhandensein von Pentosan beweist, als auch einen alkohollöslichen Phloroglucid. Das ist aber nicht auf die Anwesenheit von Methylpentosan zurückzuführen. Durch die vorliegende Untersuchung ist erwiesen, daß es sich hier nicht um Methylpentosan handelt, da weder Methylpentosen im Hydrolysat des Lignins noch Methylfurol bei der erwähnten Salzsäuredestillation (Furoldestillation) nachgewiesen werden konnten.

Lignine, welche durch lange Behandlung des Holzes mit Salzsäure hergestellt waren, oder solche, die aus der Salzsäurelösung ausfielen, gaben ausschließlich alkohollösliche Phloroglucidniederschläge, welche ebenfalls nicht mit Methylfurolphloroglucid identisch waren.

5. Die unter dem vorigen Punkte erwähnten Resultate sind für die Bestimmung von Methylpentosan in ligninhaltigen Substanzen von Bedeutung. Die früheren Bestimmungen von Methylpentosan in solchen Materialien sind auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wertlos.

6. Die Grünfärbung der Lösung und des Rückstandes bei dem Aufschluß von Holz mit starker Salzsäure ist allem Anschein nach für eine Lignin-Kohlenhydratverbindung charakteristisch. Lignin, das von Kohlenhydraten durch Hydrolyse mit starker Salzsäure befreit wird, gibt unter den gleichen Bedingungen eine Braunfärbung, wobei die Säure eine violettbraune Farbe annimmt. Die grüne Farbe der Salzsäurelösung schlägt in Violettbraun um, sobald die gelöste Ligninkohlenhydratverbindung hydrolytisch gespalten ist, wobei das Lignin ausfällt. Die erwähnte Feststellung dürfte ein schlagender Beweis für die chemische Bindung zwischen Lignin und Kohlenhydrat sein.

7. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind für die Ligninbestimmung von Interesse. Es ist nachgewiesen, daß man weder durch kurze noch durch lange Behandlungsdauer mit hochkonzentrierter Salzsäure eine ganz exakte Bestimmung des Lignins erreichen kann. Die Ligninwerte fallen immer zu niedrig aus. Durch Behandlung während längerer Zeit erreicht man aber zuverlässigere Werte, als wenn die Salzsäure nur während kurzer Zeit einwirkt, weil ein großer Teil von dem im Anfang in Lösung gegangenen Lignin später wieder ausfällt.

8. Die Bildung von Oxalsäure in einer Ausbeute von etwa 6 Proz. bei der Alkalischmelze des Salzsäurelignins und die Bildung von Bernsteinsäure bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd wurde in Übereinstimmung mit früheren Resultaten anderer Forscher nachgewiesen.

Bei der vorliegenden Untersuchung wurden wir zum Teil von Herrn Stud. techn. *S. Andersson* experimentell unterstützt.

# Über die Lichtabsorption des bei der Orcinreaktion der Pentosen entstehenden Farbstoffes.

Von

**Georg Scheff.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungarischen Universität Budapest.)

*(Eingegangen am 29. Februar 1924.)*

Wird an reinen Pentoselösungen die Orcinreaktion nach *Tollens* ausgeführt und die blau bis blaugrün gefärbte Flüssigkeit nach dem Abkühlen mit Amylalkohol (Siedepunkt 128 bis 131° C) ausgeschüttelt, so erhält man oberhalb der entfärbten wässerigen Schicht eine klare blaue bis blaugrüne amylalkoholische Schicht, die, spektroskopisch geprüft, einen Absorptionsstreifen aufweist, der — wie gewöhnlich angegeben wird — zwischen den *Frauenhofer*schen Linien *C* und *D*, d. h. zwischen den Spektralstellen 656 und 589,3 $\mu\mu$ gelegen ist. Nur in dem Falle, wenn dieser Absorptionsstreifen vorhanden ist, soll aus der Farbenreaktion auf die Anwesenheit von Pentosen gefolgert werden dürfen. Bezüglich der genaueren Lage der maximalen Lichtabsorption habe ich in der Literatur bloß eine einzige Angabe ausfindig machen können, und zwar die von *Bergell* und *Pschorr*[1]); daher es geboten erschien, die Stellen der maximalen Absorption noch einmal genau festzustellen.

Wird der amylalkoholische Auszug einer mit *Bial*schem Reagens behandelten Lösung von Arabinose oder Xylose mit dem Spektroskop geprüft, so sind eigentlich zwei Absorptionsmaxima sichtbar; das mehr rotwärts gelegene erstreckt sich aber so tief in das äußerste Rot, daß ich seine Grenze, bei Benutzung eines alten einfachen Spektralapparates, hier nicht erkennen konnte; violettwärts reichte er bis etwa 656,5 $\mu\mu$. Der zweite Streifen läßt sich nach beiden Seiten hin genauer abgrenzen: er reicht von etwa 624 $\mu\mu$ bis etwa 609 $\mu\mu$; seine Mitte ist also bei etwa 616,5 $\mu\mu$ gelegen.

---

[1]) *Bergell* und *Pschorr*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **38, 1903.**

Ein recht ähnliches Resultat erhielt ich auch durch die spektrophotometrische Prüfung am roten Spektralende, die ich an diesen Lösungen mittels eines alten *König*schen Spektrophotometers vorgenommen habe. Es war dies derselbe Apparat, der von Prof. *Hári* seinerzeit kalibriert und justiert wurde und seinen im Jahre 1917 mitgeteilten Versuchen[1]) gedient hatte. Als Lichtquelle diente *Auer*sches Gasglühlicht; die Objektivspaltbreite betrug 0,10 mm.

In nachstehender Tabelle sind die Extinktionskoeffizienten einiger amylalkoholischer Auszüge mitgeteilt, die aus mit *Bial*schem Reagens behandelten Arabinose- und Xyloselösungen erhalten wurden. Die Ablesungen wurden in der Region von 573,4 $\mu\mu$ begonnen, konnten jedoch nicht über die Region 648,2 $\mu\mu$ hinaus fortgesetzt werden, so daß der oben erwähnte rotwärts gelegene Absorptionsstreifen nicht einmal an seiner violettwärts gelegenen Grenze angenähert wurde; wohl aber konnte der zweiterwähnte Streifen seiner ganzen Breite nach geprüft werden. Durch die Zahlen in der ersten Rubrik der Tabelle wird die Wellenlänge der Strahlen angegeben, die jeweils die Mitte des Spektralausschnittes eingenommen hatten, wobei zu bemerken ist, daß die Breite des Okularspaltes bei 648,2 $\mu\mu$ einem etwa 15 $\mu\mu$ breiten, bei 621,3 $\mu\mu$ einem solchen von etwa 13 $\mu\mu$, bei 573,4 $\mu\mu$ aber einem solchen von etwa 10 $\mu\mu$ entsprochen hatte.

| Spektralstelle | Arabinose | | | Xylose |
|---|---|---|---|---|
| $\mu\mu$ | I | II | III | |
| 648,2 | 0,905 | 0,969 | 1,122 | — |
| 641,5 | — | 0,913 | 1,078 | 0,932 |
| 634,7 | 0,873 | 0,891 | 1,049 | 0,932 |
| 628,0 | 0,895 | 0,886 | 1,108 | 0,962 |
| 621,3 | 0,905 | 0,897 | 1,132 | 0,978 |
| 617,7 | — | — | 1,151 | 0,993 |
| 615,4 | 0,900 | — | 1,131 | 0,999 |
| 609,7 | 0,881 | 0,891 | 1,026 | 0,957 |
| 598,2 | 0,795 | — | 0,915 | 0,841 |
| 587,6 | — | — | — | 0,767 |
| 573,4 | 0,618 | 0,618 | 0,804 | — |

Aus den Daten dieser Tabelle ist zu ersehen, daß sich das Maximum der Lichtabsorption für Arabinose bei etwa 617,7, für Xylose bei etwa 615,4 $\mu\mu$ befindet, während die Prüfung am Spektroskop für beide 616,5 $\mu\mu$ ergeben hatte. Ich werde kaum fehlgehen, wenn ich die Ergebnisse der spektrophotometrischen Prüfung als die genaueren ansehe, jedoch hinzufüge, daß die spektroskopischen Daten zur Sicherung dieses Ergebnisses hinzugezogen werden können.

[1]) *P. Hári*, diese Zeitschr. 82, 229, 1917.

Was nun die Daten von *Bergell* und *Pschorr* anbelangt, sei folgendes bemerkt. An der Orientierungsskala des Spektroskops, mit dem die genannten Autoren gearbeitet hatten, fiel die Natriumlinie auf die Stelle 20,0, die Lithiumlinie auf die Stelle 15,5; der Absorptionsstreifen im amylalkoholischen Auszuge einer mit Orcin und Salzsäure behandelten Lösung von „reiner großkristallisierter l-Arabinose“ erstreckte sich nach links bis zum Skalenteil 17,5, nach rechts bis zum Skalenteil 18,5.

Um diese Stellen in Wellenlänge auszuwerten, kann man zunächst wie folgt vorgehen. Die Teilstrecke von 15,5 bis 20,0 entspricht einem in Wellenlängen ausgedrückten Intervall von 671 bis 589,3 $\mu\mu$, daher jeder Skalenteil zwischen 15,5 und 20,0 ein Intervall von $\frac{671{,}0 - 589{,}3}{20{,}0 - 15{,}5} = 18{,}15\,\mu\mu$ bedeutet. Auf diese Weise berechnet, ist der linke Rand des Streifens bei $671{,}0 - (17{,}5 - 15{,}5) \cdot 18{,}15 = 634{,}7$; der rechte aber bei $671{,}0 - (18{,}5 - 15{,}5) \cdot 18{,}15 = 616{,}5\,\mu\mu$ gelegen. Vorausgesetzt, daß der Absorptionsstreifen symmetrisch ist, also seine Mitte mit der maximalen Absorption zusammenfällt, ist diese in grober Annäherung bei $\frac{634{,}7 + 616{,}5}{2} = 625{,}2\,\mu\mu$ gelegen.

Dieser Art der Auswertung liegt eine einfache lineare Interpolation zugrunde, die aber aus dem Grunde unrichtig ist, da ja die Wellenlängenintervalle, die je einem Intervalle der Orientierungsskala entsprechen, von Rot gegen Violett abnehmen, wie dies auch aus dem charakteristischen Verlaufe der Dispersionskurve je eines Spektralapparates hervorgeht. Für ganz kurze Strecken wäre eine lineare Interpolation trotzdem statthaft, jedoch nicht auf das lange Intervall von 671 bis 589,3 $\mu\mu$.

Im Besitze der genauen Dispersionskurve eines im Institut befindlichen *König-Martens-Grünbaum*schen Spektrophotometers, über das Prof. *P. Hári* seinerzeit[1]) berichtet hatte, konnte ich auf folgende Weise eine weit genauere Umrechnung der *Bergell* und *Pschorr*schen Daten vornehmen. An meinem und am *Bergell* und *Pschorr*schen Apparate verhalten sich Na- und Li-Linien einerseits, Orientierungsskalen andererseits wie folgt:

| | Skalenstelle bei *Hári* | Skalenstelle bei *Bergell* und *Pschorr* |
|---|---|---|
| Li-Linie . . . | 4905 | 15,5 |
| Na-Linie . . . | 4493 | 20,0 |

folglich entsprechen einem Skalenteil des *Bergell* und *Pschorr*schen Apparates 91,55 Skalenteile des Spektrophotometers. Dann entsprechen aber die von *Bergell* und *Pschorr* gefundenen Grenzen des Absorptionsstreifens 17,5 bzw. 18,5, am Spektrophotometer den Stellen $4905 - (17{,}5 - 15{,}5) \cdot 91{,}55 = 4722$, bzw. $4905 - (18{,}5 - 15{,}5) \cdot 91{,}55 = 4630$ oder aber die Mitte des Streifens bei mir der Stelle 4676. Diese Stelle 4676 befindet sich in der Dispersionskurve des Spektrophotometers rotwärts hart neben der Skalenstelle 4635, welch letztere einer Sb-Linie von der Wellenlänge 613,0 entspricht und etwas weiter entfernt von der Skalenstelle 4593, die mit einer

[1]) *P. Hári*, Ist das Absorptionsverhältnis (*Vierordt*) ein von der Art der verwendeten Apparate usw. Diese Zeitschr. **95**, 266, 1919.

Sr-Linie von der Wellenlänge 605,5 zusammenfällt. (Die Stelle 4620, die mit einer Zn-Linie von der Wellenlänge 610,3 zusammenfällt, ist zwar noch näher gelegen, doch würde gerade aus dem allzu geringen Unterschied ein größerer Rechnungsfehler resultieren.) Dem Skalenintervall von 4635 — 4593 = 42 entspricht ein Wellenlängenintervall von 613,0 — 605,5 = 7,5 $\mu\mu$, somit entfallen auf je einen Skalenintervall 0,18 $\mu\mu$ und man erhält durch Extrapolation für die kurze Strecke zwischen der Sb-Linie, das ist 4635 bis zu der von *Bergell* und *Pschorr* gefundenen, von mir umgerechneten Stelle 4676 ein Wellenlängenintervall von (4676 — 4635).0,18 = 7,4 $\mu\mu$; woraus die gesuchte Wellenlänge gleich ist 613,0 + 7,4 = 620,4 $\mu\mu$.

In Anbetracht dessen, daß auch die von mir ausgeführte zweite Umrechnungsart naturgemäß Fehler in sich birgt, ferner, daß die Orientierungsskala des von *Bergell* und *Pschorr* benutzten Apparates recht primitiv gewesen sein mag (dem Wellenlängenintervall von 671 bis 589,3 $\mu\mu$ entsprach ein Skalenintervall von 4,5 Einheiten, an dem von mir benutzten ebenfalls einfachen, alten Spektroskop aber 14,4 Einheiten), läßt sich die Übereinstimmung zwischen diesen älteren und meinen Angaben als zufriedenstellend erachten.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter der Leitung des Herrn Prof. *P. Hári* ausgeführt.

# Über spektrophotometrische Bestimmung von Pentosen.

Von

**Georg Scheff.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungarischen Universität Budapest.)

*(Eingegangen am 29. Februar 1924.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

Die zurzeit fast einzig verwendete Methode, Pentosen quantitativ zu bestimmen, ist bekanntlich die von *Tollens* und seinen Mitarbeitern ausgearbeitete: sie beruht auf der Eigenschaft der Pentosen, bei der Destillation mit Salzsäure Furfurol zu liefern, das sich mit vorgelegtem Phloroglucin zu Furfurolphloroglucid kondensiert und als solches gewogen wird.

Von der Überzeugung durchdrungen, daß es wohl möglich wäre, unter geeigneten Versuchsbedingungen aus der Intensität der *Tollens*schen Orcinreaktion, die bislang nur qualitative Verwendung gefunden hat, auf die Konzentration der Pentosen zu folgern, hatte Prof. *Hári* dieses Problem zunächst Fräulein Dr. *Elisabeth Braun* und, nachdem ihre Versuche nach einigen orientierenden Anfangserfolgen abgebrochen wurden, mir als Arbeitsthema aufgetragen.

Das Prinzip der neuen Bestimmungsart ist ein einfaches: es wird die *Tollens*sche Orcinreaktion unter den weiter unten anzuführenden Modalitäten ausgeführt und der Extinktionskoeffizient des amylalkoholischen Auszuges an einer geeigneten Spektralstelle bestimmt.

Handelt es sich um einen Farbstoff, der aus dem Ausgangsprodukt oder aus den Komponenten in proportionalen Mengen entsteht, ist es ein Einfaches, aus dem Extinktionskoeffizienten und dem bekannten oder leicht zu bestimmenden Absorptionsverhältnis (*Vierordt*) die Konzentration zu berechnen. Bezüglich des bei der Orcinreaktion entstehenden Farbstoffes war eine solche Proportionalität nicht bestimmt zu erwarten; doch war Aussicht vorhanden, daß sich, falls sich keine technischen Schwierigkeiten ergeben, für die verschiedenen Pentosekonzentrationen Extinktionskoeffizienten ermitteln lassen werden, die, zu Tabellen vereinigt, sich ebenso wie die bekannten Tabellen von *Kröber* verwenden lassen, ohne daß das recht umständliche Destillationsverfahren ausgeführt werden mußte.

### A. Das neue Verfahren.

Ich will zunächst das fertige Verfahren schildern, wie es sich allmählich herausgebildet hat, sodann einzeln begründen, warum so und nicht anders vorgegangen werden mußte.

Es werden in einem Reagenzglase genau abgemessene 4 ccm des *Bial*schen Reagens (1 g Orcin in 500 ccm 30proz. Salzsäure gelöst, hierzu 25 Tropfen einer 10proz. Lösung von Eisenchlorid) und 1 ccm der zu untersuchenden Lösung vermischt, das Reagenzglas in ein stark siedendes Wasserbad (am besten ein mit 300 ccm beschicktes Becherglas) so tief verserkt, daß sein unteres Ende etwa 2 cm über dem Boden des Wasserbades sich befindet, eine Minute nach dem Versenken mittels eines mit Stanniol überzogenen Korkes verschlossen, genau 10 Minuten nach dem Einsetzen herausgenommen und unter einem kräftigen Leitungswasserstrahl 3 Minuten lang gekühlt. Nun läßt man aus einer Bürette ein genau abgelesenes Volumen furfurolfreien Amylalkohols (Siedepunkt 128 bis 131° C) hinzufließen, schwenkt zwei- bis dreimal um (nicht schütteln!) und läßt bis zur Entmischung, die in 10 Minuten einzutreten pflegt, stehen. Die Menge des hinzugefügten Amylalkohols muß so bemessen sein, daß die resultierende Farbstofflösung nicht zu verdünnt (hell) und nicht zu konzentriert (dunkel) sei, da sonst die spektrophotometrische Prüfung erschwert, ja vereitelt werden könnte.

Da es sich um wenig Amylalkohol handelt, ist es besser, nicht das von *Martens* und *Grünbaum* modifizierte *König*sche Spektrophotometer mit der großen Beleuchtungsvorrichtung und die hierzu gehörenden relativ großen Röhren, sondern irgend eine Einrichtung zu verwenden, bei der die zu untersuchende Flüssigkeit in die viel kleineren Tröge mit dem *Schulz*schen Körper eingefüllt wird. Es genügen hierzu 3 ccm des Auszuges, die mittels einer Pipette abgehoben werden.

### B. Einzelheiten meines Verfahrens.

*Ausführung der Reaktion mit Orcin und Salzsäure.* Obzwar ich zurzeit noch weit davon entfernt bin, mein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Pentosen im Harne verwenden zu können, erschien es mir doch geboten, das Verfahren so auszuarbeiten bzw. solche Reaktionsbedingungen zu schaffen, daß andere im Harne vorkommende Bestandteile an der Reaktion unbeteiligt bleiben. Solche Bestandteile sind die Glucuronsäuren, in deren Gegenwart die ursprüngliche Orcinreaktion auch in Abwesenheit von Pentosen positiv ausfällt, während dieselbe nach *Bial* unter den von ihm vorgeschriebenen Modalitäten ohne Pentosen ein negatives Ergebnis liefert. Versucht man aber die Pentosen quantitativ zu bestimmen, so führt die *Bial*sche Probe — 4 ccm des Reagens werden aufgekocht und 1 ccm der zu untersuchenden Lösung hinzugefügt — ebenso wenig zum Ziele, wie längeres Kochen des Gemisches über freier Flamme; denn in keinem der beiden Fälle erhält man an gleich konzentrierten Pentosenlösungen gleich stark gefärbte amylalkoholische Auszüge; wohl aber, wenn das Pentose-

Salzsäure-Orcin-Gemisch im Reagenzglase indirekt, durch Versenken in ein Wasserbad länger als nach *Bial*, doch nicht so lange erhitzt wird, daß sich auch andere Farbstoffe, die sehr störend wirken, bilden können. Durch vergleichende Untersuchungen konnte ich ermitteln, daß man durch 10 Minuten langes indirektes Erhitzen die besten Resultate, und an gleich konzentrierten Pentoselösungen in Parallelbestimmungen gut übereinstimmende Resultate erhält.

Um eine Konzentrationsänderung im Gemische während des Erhitzens hintanzuhalten, soll das Reagenzglas verschlossen gehalten werden; um aber keinen allzu hohen Druck über der Flüssigkeit entstehen zu lassen, verschließt man das Reagenzglas erst, nachdem die Flüssigkeit bereits recht warm geworden ist. Dies ist erfahrungsgemäß nach etwa 1 Minute bereits der Fall.

*Konzentration der verwendeten Salzsäure.* Es ist für die Menge des aus der Pentose abgespaltenen Furfurols, daher auch für die des entstehenden gefärbten Kondensationsproduktes durchaus nicht gleichgültig, welche Konzentration die bei der Reaktion verwendete Salzsäure hat. Wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich, betrugen die an der Spektralstelle 617,7 $\mu\mu$ bestimmten, nach S. 97 umgerechneten Extinktionskoeffizienten:

| An einer Arabinoselösung von der prozentualen Konzentration | mit 24,7 Proz. HCL | mit 29,9 Proz. HCL | mit 35,5 Proz. HCL |
|---|---|---|---|
| 0,105 | 9,4 | 21,3 | 21,4 |
| 0,131 | 12,8 | 22,4 | — |
| 0,187 | 13,9 | 25,0 | 27,8 |
| 0,394 | 19,2 | 31,6 | 39,2 |
| 0,525 | 20,0 | 33,3 | — |

Es ist also durchaus geboten, sich diesbezüglich strenge an die Vorschrift von *Bial* zu halten und stets 30proz. Salzsäure zu verwenden.

*Kühlen des Reaktionsgemisches.* Energisches Kühlen nach vollendeter Reaktion ist aus zwei Gründen nötig. Einerseits findet glatte Scheidung der beiden Phasen — wässerig-salzsaure und amylalkoholische — nur statt, wenn gut gekühlt war; andererseits geht die Farbstoffbildung in der nur allmählich erkaltenden Flüssigkeit noch weiter, und zwar in den verschiedenen Proben nicht gleichmäßig vor sich, demzufolge die Ergebnisse auch an gleich stark konzentrierten Pentoselösungen ungleich ausfallen können. Wird jedoch rasch und energisch gekühlt, so kommt der Prozeß rasch und in allen Proben annähernd zur selben Zeit zum Stillstand, demzufolge auch die Parallelbestimmungen gleiche Ergebnisse liefern.

*Furfurolgehalt des zur Extraktion verwendeten Amylalkohols.* Versetzt man furfurolhaltigen Amylalkohol mit *Bial*schem Reagens, schwenkt um und erhitzt, so entsteht je nach dem stärkeren oder geringeren Furfurolgehalt eine mehr oder minder starke Grünblaufärbung der Amylalkoholschicht. Handelt es sich um Beimengung geringer Mengen von Furfurol, so kann man die Lichtabsorption des aus diesem entstehenden Farbstoffes in eigens zu diesem Zwecke ausgeführten Versuchen bestimmen und von dem Ergebnis, das man an der Pentoselösung erhält, in Abzug bringen. Diese Korrektion darf jedoch nicht mehr als 2 bis 3 Proz. des an der Pentoselösung erhaltenen Extinktionskoeffizienten ausmachen. Ist der Furfurolgehalt des Amylalkohols größer, so ist er nicht zu verwenden, denn zwischen

dem Furfurol einerseits und dem gelösten Orcin andererseits, den der Amylalkohol beim Ausschütteln aufgenommen hat, geht der Kondensationsprozeß immerzu noch weiter vor sich, so daß kein konstantes Resultat erhalten werden kann.

*Vorbereitung zur spektrophotometrischen Prüfung.* Wird der amylalkoholische Auszug einer mit dem *Bial*schen Reagens behandelten Pentoselösung zu konzentriert (dunkel) befunden, um spektrophotometrisch geprüft werden zu können, so ist es ein Einfaches und Selbstverständliches — möchte man meinen — den Auszug bis zur entsprechenden Aufhellung mit Amylalkohol zu verdünnen. Man wird sich jedoch alsbald davon überzeugen, daß dies untunlich ist, denn nicht nur die Färbungs*intensität* des Auszuges wird auf diese Weise verändert, sondern auch dessen Farben*ton*, so daß man ganz falsche Resultate erhält. Die Ursache dieser Erscheinung liegt, wie sich herausgestellt hat, darin, daß der charakteristische Farbenton nur in dem Salzsäure (und Orcin) enthaltenden und mit diesen Stoffen offenbar gesättigten Amylalkohol bestehen bleibt, sich aber sofort verändert, wenn deren Konzentration im Amylalkohol durch die Verdünnung herabgesetzt wird. Aus diesem Grunde ist es unstatthaft, den amylalkoholischen Auszug erst abzuheben und dann zu verdünnen; vielmehr muß Amylalkohol in genau bekannten Mengen zum dunklen Auszug hinzugefügt werden, so lange dieser noch über der wässerig-salzsauren Flüssigkeit steht. Am besten ist es, den Amylalkohol kubikzentimeterweise hinzuzufügen und jedesmal zwei- bis dreimal umzuschwenken; nach einiger Übung wird man es weg haben, beurteilen zu können, wann der Auszug hinreichend hell geworden ist.

*Ausführung der spektrophotometrischen Ablesungen.* Es hatten sich in den ersten orientierenden Versuchen Unstimmigkeiten daraus ergeben, daß ich mit den spektrophotometrischen Ablesungen sofort, nachdem der Trog mit dem amylalkoholischen Auszuge zwischen Lichtquelle und Objektivspalt eingesetzt war, begann. Denn, wie es sich herausgestellt hat, ist das gefärbte Kondensationsprodukt nicht lichtbeständig, vielmehr nimmt seine Lichtabsorption unter Einwirkung des Lichtes rasch ab. Doch dauert diese Abnahme nicht lange; wartet man die von mir vorgeschriebenen 5 Minuten ab, so ist die Lichtabsorption nunmehr als praktisch konstant anzusehen. Ich habe die Bestimmungen an einem älteren *König*schen Spektrophotometer vorgenommen, am selben Apparat, der von Prof. *Hári* kalibriert und justiert wurde und zu seinen im Jahre 1917 mitgeteilten Versuchen[1]) gedient hatte. Die Ablesungen erfolgten auf der Höhe der maximalen Absorption, und zwar an der Spektralstelle 617,7 $\mu\mu$[2]). Gleich nachher wird diese Bestimmung am reinen Lösungsmittel (Amylalkohol) ausgeführt.

*Berechnung der Konzentration aus dem Extinktionskoeffizienten.* Wird, wie in meinen Versuchen, die Flüssigkeit im alten *König*schen Spektrophotometer untersucht und beträgt der im amylalkoholischen Auszug abgelesene Winkel $\beta^0$, der am Lösungsmittel Amylalkohol abgelesene $\alpha^0$, so ist der Extinktionskoeffizient $\varepsilon$

$$\varepsilon = -\left[\log tg^2 \beta + \log \frac{1}{tg^2 \alpha}\right].$$

[1]) *P. Hári*, Beiträge zur Lichtabsorption des Oxyhämoglobins. Diese Zeitschr. **82**, 229, 1917.

[2]) Siehe meine vorangehende Arbeit. Diese Zeitschr. **147**, 90, 1924.

Die Berechnung der Konzentration aus den Extinktionskoeffizienten geschieht auf Grund der Formel $c = \varepsilon A$. In dieser Formel bedeutet $c$ nach *Vierordt* die in Grammen ausgedrückte Menge des Stoffes, die in 1 ccm der Lösung enthalten ist, $A$ aber eine für je einen Farbstoff an einer bestimmten — jedoch nur an dieser — Spektralstelle charakteristische Konstante. Für den amylalkoholischen Auszug des bei der Pentosereaktion entstehenden Farbstoffs läßt sich eine solche Konstante $A$ leider nicht verwenden, da, wie bereits eingangs erwähnt, bei verschiedenen Pentosekonzentrationen der Farbstoff nicht in proportionalen Mengen gebildet wird.

Diese Schwierigkeit habe ich dadurch umgangen, daß ich in den amylalkoholischen Auszügen der mit *Bial*schem Reagens behandelten Pentoselösungen verschiedenster Konzentration die Extinktionskoeffizienten bestimmte; bezüglich jeder einzelnen Pentosekonzentration besteht dann die Gleichung

$$c = \varepsilon . K,$$

wobei $K$ eine ähnliche Bedeutung hat, wie das *Vierordt*sche Absorptionsverhältnis $A$, mit dem Unterschiede, daß $K$ jeweils nur für eine ganz bestimmte Pentosekonzentration gültig ist; $c$ aber, um die Rechnung einfacher zu gestalten, nicht die oben erwähnte, von *Vierordt* gegebene Bedeutung hat, sondern einfach die prozentuale Konzentration anzeigt. Aus der allgemeinen Formel

$$c = \varepsilon . K$$

folgt dann, daß

$$K = \frac{c}{\varepsilon};$$

Diese Werte von $K$ wurden in einer Anzahl von Versuchen bestimmt, mußten jedoch einer Korrektion aus folgendem Grunde unterzogen werden. Da der in 1 ccm der Zuckerlösung entstandene Farbstoff in 10, oder in 15, oder im allgemeinen in $v$ ccm Amylalkohol übertragen wird, ist der aus den abgelesenen Winkelgraden berechnete Extinktionskoeffizient bloß der zehnte bzw. fünfzehnte bzw. $v$-te Teil des Extinktionskoeffizienten, der

| Salzsäure-Orcingemisch | Volumen des hinzugefügten Amylalkohols | Volumen des Amylalkohols nach dem Umschwenken |
|---|---|---|
| ccm | ccm | ccm |
| 5 | 5 | 6,4 |
| 5 | 10 | 12,3 |
| 5 | 15 | 18,2 |
| 5 | 20 | 23,6 |
| 5 | 25 | 29,0 |
| 5 | 30 | 33,9 |

der Zuckerlösung tatsächlich zukommt. Es mußte also an Stelle von $\varepsilon$ gesetzt werden: $10.\varepsilon$ bzw. $15.\varepsilon$ bzw. $v.\varepsilon$. Nun hat sich aber des weiteren herausgestellt, daß beim Umschwenken des Amylalkohols mit der wässerig-salzsauren Schicht das Volumen des Amylalkohols auf Kosten der anderen Schicht zunimmt. Es läßt sich also das wahre Volumen des Amylalkohols, in dem das gefärbte Kondensationsprodukt gelöst ist, durch Multiplikation des hinzugefügten Volumens $v$ mit einem Faktor $f$ ermitteln. Die den verschiedenen Amylalkoholvolumina entsprechenden

Faktoren $f$ sind in Tabelle II auf S. 101 zusammengestellt; sie sind aus obigen Versuchen durch Interpolation erhalten. Aus diesen Gründen mußte obige Formel durch folgende ersetzt werden:

$$K = \frac{c}{v \cdot f \cdot \varepsilon} \cdot$$

Von den verschiedenen Pentosen waren mir bloß Arabinose (*Merck* und *Schuchardt*) und Xylose (*Schuchardt*) zugängig. Etwa 0,5 g des Zuckers wurden bei 65° C im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, eine genau abgewogene Menge in 50 ccm destillierten Wassers gelöst, von dieser Stammlösung verschiedene Verdünnungen hergestellt, an ihnen die Orcinreaktion nach den von mir gegebenen Vorschriften ausgeführt, am amylalkoholischen Auszuge die spektrophotometrische Bestimmung vorgenommen und die Werte von $K$ nach der Formel $K = \frac{c}{v \cdot f \cdot \varepsilon}$ berechnet. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen sind in Tabelle I zusammengestellt.

**C. Konzentrationsbestimmung in Arabinose- und Xyloselösungen.**

Um eine Reihe von Zahlen zu erhalten, in der die aus den unvermeidlichen Versuchsfehlern resultierenden Unstimmigkeiten möglichst ausgemerzt sind und durch die es ermöglicht wird, aus den Extinktionskoeffizienten die prozentuale Konzentration einer Pentoselösung einfach abzulesen, habe ich die im letzten Stabe der Tabelle I enthaltenen Werte $K$ in ein Koordinatensystem als Ordinaten aufgetragen und die prozentualen Pentosekonzentrationen auf der Abszissenachse verzeichnet. Aus der auf diese Weise erhaltenen Kurve, die allerdings an manchen nicht recht stimmenden Punkten rechts oder links vorbeigezogen werden mußte, ließen sich für Arabinose die in Tabelle III, für Xylose die in Tabelle IV verzeichneten Werte ermitteln, wobei nur die fettgedruckten das Ergebnis einer graphischen Interpolation darstellen, während die dazwischen liegenden einfach linear interpoliert sind. Aus diesen durch die graphische Interpolation richtiger gestellten

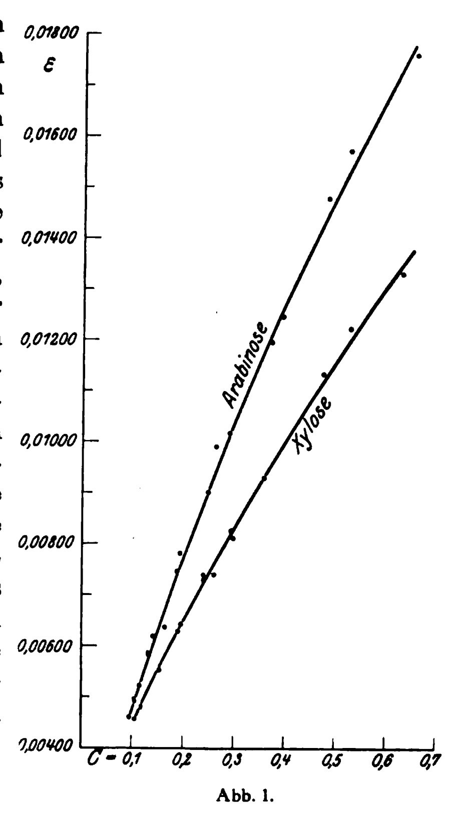


Abb. 1.

Werten von $K$ ließen sich nunmehr entsprechende Werte für $\varepsilon$ ermitteln, indem aus

$$K = \frac{c}{v \cdot f \cdot \varepsilon}, \quad v \cdot f \cdot \varepsilon = \frac{c}{K}.$$

*Tabelle I.*

| Verwendete Pentose | Konzentration Proz. | Hinzugefügter Amylalkohol ($v$) ccm | Faktor a. Tab. II auf Seite 101 ($f$) | $K$ $\left(\frac{c}{v \cdot f \cdot \varepsilon}\right)$ |
|---|---|---|---|---|
| Arabinose (*Schuchardt*) . | 0,0962 | 15 | 1,22 | 0,004 63 |
| „ „ . | 0,105 | 15 | 1,22 | 0,004 93 |
| „ „ . | 0,105 | 17 | 1,21 | 0,004 97 |
| „ (*Merck*) . . . | 0,115 | 18 | 1,20 | 0,005 23 |
| „ (*Schuchardt*) . | 0,131 | 18 | 1,20 | 0,005 85 |
| „ „ . | 0,131 | 20 | 1,19 | 0,005 89 |
| „ „ . | 0,141 | 20 | 1,19 | 0,006 20 |
| „ (*Merck*) . . . | 0,165 | 20 | 1,19 | 0,006 38 |
| „ (*Schuchardt* . | 0,187 | 21 | 1,18 | 0,007 47 |
| „ „ . | 0,192 | 23 | 1,17 | 0,007 83 |
| „ (*Merck*) . . . | 0,247 | 22 | 1,18 | 0,009 02 |
| „ (*Schuchardt*) . | 0,262 | 23 | 1,17 | 0,009 93 |
| „ „ . | 0,289 | 24 | 1,17 | 0,010 19 |
| „ (*Merck*) . . . | 0,371 | 26 | 1,15 | 0,011 99 |
| „ (*Schuchardt*) . | 0,394 | 27 | 1,15 | 0,012 49 |
| „ „ . | 0,481 | 29 | 1,14 | 0,014 83 |
| „ „ . | 0,525 | 30 | 1,13 | 0,015 75 |
| „ „ . | 0,656 | 30 | 1,13 | 0,017 63 |
| Xylose (*Schuchardt*) . . | 0,104 | 21 | 1,18 | 0,004 58 |
| „ „ . . | 0,119 | 19 | 1,20 | 0,004 80 |
| „ „ . . | 0,119 | 19 | 1,20 | 0,004 83 |
| „ „ . . | 0,154 | 21 | 1,18 | 0,005 54 |
| „ „ . . | 0,190 | 22 | 1,18 | 0,006 30 |
| „ „ . . | 0,195 | 23 | 1,17 | 0,006 44 |
| „ „ . . | 0,239 | 25 | 1,16 | 0,007 42 |
| „ „ . . | 0,239 | 25 | 1,16 | 0,007 31 |
| „ „ . . | 0,260 | 25 | 1,16 | 0,007 42 |
| „ „ . . | 0,293 | 27 | 1,15 | 0,008 27 |
| „ „ . . | 0,296 | 25 | 1,16 | 0,008 11 |
| „ „ . . | 0,356 | 30 | 1,13 | 0,009 32 |
| „ „ . . | 0,474 | 35 | 1,10[2]) | 0,011 38 |
| „ „ . . | 0,526 | 19 | 1,20 | 0,012 28[1]) |
| „ „ . . | 0,630 | 20 | 1,19 | 0,013 36[1]) |

[1]) In diesen beiden Versuchen wurden von 5 ccm Orcin-Salzsäure-Pentosegemisch $2^1/_2$ ccm mit 19 bzw. 20 ccm Amylalkohol extrahiert, daher $K = \frac{c}{2 \cdot v \cdot f \cdot \varepsilon}$. — [2]) Extrapoliert.

Diese Werte sind im dritten und sechsten Stabe der Tabellen III und IV enthalten.

Soll also in einem gegebenen Falle die Konzentration einer Arabinose- oder Xyloselösung bestimmt werden, so führt man die Orcinreaktion nach der von mir gegebenen Vorschrift aus, extrahiert mit einem angemessenen Volumen Amylalkohol, bestimmt in diesem Aus-

zuge den Extinktionskoeffizienten $\varepsilon$, entnimmt der Tabelle II den dem Amylalkoholvolumen $v$ entsprechenden Faktor $f$ und liest einfach in Tabelle III oder IV die Pentosekonzentration (erster bzw. vierter Stab) ab, die dem Werte $v.f.\varepsilon$ (dritter und sechster Stab) entspricht.

*Tabelle II.*

| Zu 5 ccm der HCl-Orcin-Pentoselösung hinzugefügter Amylalkohl $v$ | $f$ | Zu 5 ccm der HCl-Orcin-Pentoselösung hinzugefügter Amylalkohol $v$ | $f$ |
|---|---|---|---|
| 5 | 1,28 | 18 | 1,20 |
| 6 | 1,27 | 19 | 1,20 |
| 7 | 1,27 | 20 | 1,19 |
| 8 | 1,26 | 21 | 1,18 |
| 9 | 1,26 | 22 | 1,18 |
| 10 | 1,25 | 23 | 1,17 |
| 11 | 1,24 | 24 | 1,17 |
| 12 | 1,24 | 25 | 1,16 |
| 13 | 1,23 | 26 | 1,15 |
| 14 | 1,23 | 27 | 1,15 |
| 15 | 1,22 | 28 | 1,14 |
| 16 | 1,21 | 29 | 1,14 |
| 17 | 1,21 | 30 | 1,13 |

*Tabelle III.* Arabinose.

| Konzentration Proz. | $K$ | $v.f.\varepsilon$ | Konzentration Proz. | $K$ | $v.f.\varepsilon$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **0,10** | **0,004 72** | 21,18 | 0,38 | 0,012 27 | 30,97 |
| 0,11 | 0,005 03 | 21,87 | 0,39 | 0,012 50 | 31,20 |
| 0,12 | 0,005 34 | 22,47 | **0,40** | **0,012 72** | 31,45 |
| 0,13 | 0,005 65 | 23,01 | 0,41 | 0,012 94 | 31,69 |
| 0,14 | 0,005 96 | 23,49 | 0,42 | 0,013 15 | 31,94 |
| **0,15** | **0,006 27** | 23,92 | 0,43 | 0,013 37 | 32,16 |
| 0,16 | 0,006 57 | 24,35 | 0,44 | 0,013 58 | 32,40 |
| 0,17 | 0,006 86 | 24,78 | **0,45** | **0,013 80** | 32,61 |
| 0,18 | 0,007 16 | 25,14 | 0,46 | 0,014 01 | 32,83 |
| 0,19 | 0,007 45 | 25,50 | 0,47 | 0,014 22 | 33,05 |
| **0,20** | **0,007 75** | 25,81 | 0,48 | 0,014 43 | 33,26 |
| 0,21 | 0,008 02 | 26,18 | 0,49 | 0,014 64 | 33,47 |
| 0,22 | 0,008 29 | 26,54 | **0,50** | **0,014 85** | 33,67 |
| 0,23 | 0,008 56 | 26,87 | 0,51 | 0,015 05 | 33,89 |
| 0,24 | 0,008 83 | 27,18 | 0,52 | 0,015 25 | 34,10 |
| **0,25** | **0,009 10** | 27,47 | 0,53 | 0,015 45 | 34,31 |
| 0,26 | 0,009 36 | 27,78 | 0,54 | 0,015 65 | 34,50 |
| 0,27 | 0,009 62 | 28,07 | **0,55** | **0,015 85** | 34,70 |
| 0,28 | 0,009 88 | 28,34 | 0,56 | 0,016 04 | 34,91 |
| 0,29 | 0,010 14 | 28,60 | 0,57 | 0,016 23 | 35,12 |
| **0,30** | **0,010 40** | 28,84 | 0,58 | 0,016 42 | 35,32 |
| 0,31 | 0,010 64 | 29,14 | 0,59 | 0,016 61 | 35,52 |
| 0,32 | 0,010 88 | 29,41 | **0,60** | **0,016 80** | 35,71 |
| 0,33 | 0,011 12 | 29,68 | 0,61 | 0,016 98 | 35,92 |
| 0,34 | 0,011 36 | 29,93 | 0,62 | 0,017 16 | 36,13 |
| **0,35** | **0,011 60** | 30,17 | 0,63 | 0,017 34 | 36,33 |
| 0,36 | 0,011 82 | 30,46 | 0,64 | 0,017 52 | 36,53 |
| 0,37 | 0,012 05 | 30,71 | **0,65** | **0,017 70** | 36,72 |

*Tabelle IV.*

Xylose.

| Konzentration Proz. | K | v.f.ε | Konzentration Proz. | K | v.f.ε |
|---|---|---|---|---|---|
| **0,10** | **0,004 45** | 22,47 | 0,38 | 0,009 72 | 39,09 |
| 0,11 | 0,004 66 | 23,60 | 0,39 | 0,009 88 | 39,47 |
| 0,12 | 0,004 87 | 24,64 | **0,40** | **0,010 05** | 39,80 |
| 0,13 | 0,005 08 | 25,59 | 0,41 | 0,010 21 | 40,16 |
| 0,14 | 0,005 29 | 26,46 | 0,42 | 0,010 37 | 40,50 |
| **0,15** | **0,005 50** | 27,27 | 0,43 | 0,010 53 | 40,84 |
| 0,16 | 0,005 70 | 28,07 | 0,44 | 0,010 69 | 41,16 |
| 0,17 | 0,005 90 | 28,81 | **0,45** | **0,010 85** | 41,47 |
| 0,18 | 0,006 10 | 29,51 | 0,46 | 0,011 00 | 41,82 |
| 0,19 | 0,006 30 | 30,16 | 0,47 | 0,011 16 | 42,11 |
| **0,20** | **0,006 50** | 30,77 | 0,48 | 0,011 31 | 42,44 |
| 0,21 | 0,006 69 | 31,39 | 0,49 | 0,011 47 | 42,72 |
| 0,22 | 0,006 88 | 31,98 | **0,50** | **0,011 62** | 43,03 |
| 0,23 | 0,007 07 | 32,53 | 0,51 | 0,011 78 | 43,30 |
| 0,24 | 0,007 26 | 33,06 | 0,52 | 0,011 93 | 43,59 |
| **0,25** | **0,007 45** | 33,56 | 0,53 | 0,012 09 | 43,84 |
| 0,26 | 0,007 63 | 34,08 | 0,54 | 0,012 24 | 44,12 |
| 0,27 | 0,007 82 | 34,53 | **0,55** | **0,012 40** | 44,36 |
| 0,28 | 0,008 00 | 35,00 | 0,56 | 0,012 54 | 44,66 |
| 0,29 | 0,008 19 | 35,41 | 0,57 | 0,012 69 | 44,92 |
| **0,30** | **0,008 37** | 35,84 | 0,58 | 0,012 83 | 45,21 |
| 0,31 | 0,008 54 | 36,30 | 0,59 | 0,012 98 | 45,46 |
| 0,32 | 0,008 71 | 36,74 | **0,60** | **0,013 12** | 45,73 |
| 0,33 | 0,008 88 | 37,16 | 0,61 | 0,013 26 | 46,00 |
| 0,34 | 0,009 05 | 37,57 | 0,62 | 0,013 39 | 46,30 |
| **0,35** | **0,009 22** | 37,96 | 0,63 | 0,013 53 | 46,56 |
| 0,36 | 0,009 39 | 38,34 | 0,64 | 0,013 66 | 46,85 |
| 0,37 | 0,009 55 | 38,74 | **0,65** | **0,013 80** | 47,10 |

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. *P. Hári* ausgeführt.

# Studien über parenterale Resorption[1]).

## I. Mitteilung:

## Resorption aus der Bauchhöhle unter normalen Bedingungen.

Von

**N. Okuneff.**

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie an der militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.)

*(Eingegangen am 29. Februar 1924.)*

Mit 8 Abbildungen im Text.

Manche Fragen der parenteralen Resorption sind trotz der eingehenden Untersuchungen auf diesem Gebiete von *Starling*[2]), *Hamburger*[3]), *Asher*[4]), *Roth*[5]) u. a. bis jetzt noch sehr wenig geklärt. So wissen wir z. B. sehr wenig von der parenteralen Resorption kolloidaler Stoffe, worauf auch *Friedemann*[6]) in seinem Sammelreferat über die parenterale Resorption hinweist. Ferner bleiben bis jetzt die Mengenverhältnisse der resorbierten Substanz im Blute in den verschiedenen Zeitperioden des Resorptionsprozesses fast ganz unbekannt. Diese Fragen erscheinen aber nicht nur vom theoretischen, sondern auch vom praktischen Standpunkte aus von Wichtigkeit.

Nun sind die gewöhnlich bei Resorptionsstudien angewandten Methoden gerade für die Beantwortung der erwähnten Fragen wenig geeignet. Denn Stoffe, die gewöhnlich in den Versuchen über parenterale Resorption gebraucht werden, stellen verschiedene Salze oder kristallinische Farbstoffe dar, deren exakte quantitative Bestimmungen in kleinen Blutmengen technisch nicht leicht ausführbar sind. Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, die angedeuteten Fragen der parenteralen Resorption unter Anwendung einer *kolorimetrischen Methodik* nachzuforschen. Die Grundidee dieser Methodik besteht in

---

[1]) Im Auszuge vorgetragen in der Sitzung der Russ. Pathol. Gesellsch. am 14. Oktober 1921, siehe Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 47.

[2]) *Starling*, Journ. of Physiol. 1897—1898, Nr. 22.

[3]) *Hamburger*, Osmotischer Druck und Ionenlehre 2, 1904.

[4]) *Asher*, diese Zeitschr. 45, 45, 1908.

[5]) *Roth*, Arch. f. (Anat. u.) Phys. 1899, S. 416.

[6]) *Friedemann*, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 8, 1909.

folgendem. Es werden in die Körperhöhle bzw. Gewebe, wo die Resorptionserscheinungen studiert werden sollen, z. B. gegebenenfalls in die Bauchhöhle, genau bestimmte Mengen der Lösung eines *kolloidalen Farbstoffs* injiziert. Nach verschiedenen Zeitintervallen wird einer der peripherischen Venen Blut entnommen. In dem gewonnenen Blute bzw. Plasma wird die Menge der enthaltenen Farbe *kolorimetrisch* bestimmt. Auf solche Weise wird die Möglichkeit gegeben, *die Resorption eines kolloidalen Stoffes vom quantitativen Standpunkte aus* zu verfolgen.

Die vorliegende erste Mitteilung enthält die Besprechung der Versuche, die speziell *die Resorption aus der Bauchhöhle*, und zwar *in normalem Zustande*, betreffen.

Farbstoffe wurden schon seit längerer Zeit bei den Resorptionstudien gebraucht (siehe *Magendie*, *J. Müller* u. a.), gewöhnlich aber nur, um die Wege der Resorption festzustellen. Es wurden dabei von einigen Autoren eventuell auch Beobachtungen über den Gehalt der resorbierten Substanz im Blute gemacht. So haben *Starling* und *Tubby*[1]) sowie *Mendel*[2]) Indigocarmin, welches in die Bauchhöhle injiziert wurde, im Blutplasma und in der Lymphe wiedergefunden. *Dandy* und *Rowntree*[3]) führten auch einige, aber nicht systematische, quantitative Bestimmungen im Blute des aus der Bauchhöhle resorbierten Phenolsulfophthaleins mit Hilfe der Kolorimetrie aus. *Hara*[4]) hat die Resorption der Farbe Fluorescein aus der Bauchhöhle nach dem Auftreten der *Ehrlich*schen Linie in der vorderen Augenkammer studiert. Diese Methode, die vom Verfasser als eine „neue" bezeichnet wird, wurde tatsächlich schon im Jahre 1916 von *Rosenow*[5]) in seinen Versuchen über die interstitielle Resorption gebraucht. Speziell über die Resorption von *Trypanblau* finden wir einige Angaben in den Arbeiten von *Bouchard*[6]), *Goldmann*[7]), *Schulemann*[8]), *Möllendorff*[9]), *Shipley* und *Cunningham*[10]) und *Putnam*[11]). Systematische quantitative Bestimmungen der Farbe im Blute fehlen aber diesen Arbeiten ganz. *Möllendorff* hat einige flüchtige Beobachtungen über die angebliche Farbenkonzentration im Blute bei der Resorption von Trypanblau aus dem subkutanen Bindegewebe gemacht. *Shipley* und *Cunningham* beobachteten die Resorption einer 1 proz. Lösung von Trypanblau durch das Omentum majus beim lebendigen Tiere, wobei das Netz in die Farbenlösung eingetaucht wurde. Verfasser meinen, daß die Resorption dieser Farbe durch die Blutgefäße stattfindet. Neuerdings hat

---

[1]) *Starling* und *Tubby*, Journ. of Physiol. 1894, Nr. 16.
[2]) *Mendel*, Amer. Journ. of Phys. **2**, 4, 1899.
[3]) *Dandy* und *Rowntree*, Beitr. z. klin. Chir. **87**, 1913.
[4]) *Hara*, diese Zeitschr. **126**, 281, 1921/22.
[5]) *Rosenow*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **4**, 1916.
[6]) *Bouchard*, Ann. de l'Inst. Pasteur **20**, 1906.
[7]) *Goldmann*, Beitr. z. klin. Chir. **64**, 1909.
[8]) *Schulemann*, Arch. d. Pharm. **250**, 1912; diese Zeitschr. **80**, 1917.
[9]) *Möllendorff*, Anat. Anzeiger **53**, 1, 1915/16.
[10]) *Shipley* und *Cunningham*, The Amer. Journ. of Phys. **40**, 1916.
[11]) *Putnam*, ebendaselbst 1923, Nr. 3; Ref. Congress Zentralbl. f. inn. Med. 1, 7, 1924.

*Putnam* die Resorption von Trypanblau und Pyrrholblau aus der Bauchhöhle beobachtet. Verfasser fand, daß die Farben nach intravenöser Injektion im Peritonealraum nicht erscheinen. Da in Untersuchungen von *Putnam* hauptsächlich das Schicksal der eingespritzten Farbenlösungen am Resorptionsorte, d. h. in der Bauchhöhle, betrachtet wird, nicht aber die Mengenverhältnisse der Farbe im Blute, wollen wir die ausführlichere Besprechung dieser Arbeit für die folgende Mitteilung vorbehalten.

## Eigene Untersuchungen.

### Die *Methode* meiner Untersuchungen war folgende.

Als kolloidaler Farbstoff wurde der Farbstoff Trypanblau (*Grübler*) gewählt. Dieser Farbstoff löst sich leicht in Wasser und in physiologischer NaCl-Lösung, wird von den Versuchstieren — Kaninchen — gut vertragen und gehört zu den *blauen* Farbstoffen, was auch wichtig ist, da dieser Farbenton im tierischen Organismus nicht vorkommt. Trypanblau gehört zu den *hydrophilen* Kolloiden und besitzt als solches die Eigenschaft, vital zu färben [*Schulemann*[1])], d. h. wird von den Zellen des tierischen Organismus in der einen oder der anderen Form aufgenommen[2]). Die Farbe wurde in Form einer 1 bis 2proz. Lösung (in physiologischer NaCl-Lösung) den Kaninchen in die Bauchhöhle injiziert, wobei die Möglichkeit des Einstechens der Nadel in den Darm stets im Auge behalten wurde. Um dieses zu vermeiden, wurden die Injektionen nach der Methode von *Achard* und *Gaillard*[3]) (Durchstechen einer aus den Geweben der Bauchwand gebildeten Falte) ausgeführt. Übrigens wurde in jedem Versuche auf das Erscheinen des Farbstoffs in den Exkrementen geachtet, so daß eine Einspritzung der Farbe in den Darm leicht entdeckt werden konnte. Wie bei der Herstellung der Farbenlösung, so auch besonders bei der Injektion wurde der Genauigkeit der Dosierung viel Gewicht beigelegt. Für die Injektion der Farbenlösung gebrauchte ich die *Lieberg*sche Spritze, die eine sehr genaue Dosierung erlaubt. In verschiedenen Zeitintervallen nach der Injektion (von 2 bis 3 Minuten angefangen bis zu mehreren Tagen) wurden der Jugularvene 0,5 ccm Blut entnommen, wozu eine bis 0,01 ccm tarierte Pipette verwendet wurde. In einigen unten ausführlicher zu besprechenden Versuchen wurde das Blut auch der Art. carotis entnommen. Das Blut wurde im Gemisch mit einer 2proz. Lösung von Natrium citricum zentrifugiert und das Trypanblau enthaltende Blutplasma kolorimetriert. Für kolorimetrische Bestimmungen diente das *Authenrieth-Koenigsberg*sche Kolorimeter, wobei der Standardlösung der Farbe (1 : 50000) eine ½proz. Gelatinelösung beigemengt wurde. Letzteres Verfahren war notwendig, um gleiche Farbentöne des gefärbten Plasmas und der Standardlösung zu erzielen (vgl. *Lüers*). Nach der üblichen Eichung des Kolorimeters konnten kolorimetrische Bestimmungen des Gehaltes der Farbe im Plasma in Milligramm pro 100 ccm ausgeführt werden. Die angebliche Fehlergrenze solcher kolorimetrischen Bestimmungen des Farbengehaltes im Plasma war unter 0,1 mg, was spezielle Kontroll-

---

[1]) *Schulemann*, l. c.

[2]) Zum Unterschiede von vielen anderen Farbstoffen [auch Kolloidalen, wie z. B. Pyrrholblau (*Karczag*, diese Zeitschr. 138, H. 4/6, 344, 1923)] wird Trypanblau nach meinen Beobachtungen durch das Blutplasma nicht entfärbt.

[3]) *Achard* und *Gaillard*, Arch. d. med. exper. et de l'anat. pathol. 17, 1905.

bestimmungen erwiesen haben. Aus den für die Farbenkonzentration im Blute erhaltenen Zahlen wurde die Gewichtsmenge des Farbstoffs im ganzen Plasma- bzw. Blutvolumen des betreffenden Versuchstieres berechnet. Die gesamte Blutmenge berechnete ich mit 6 Proz. des Körpergewichtes, das Plasma = 52 Proz. der Blutmenge (*Höber*). Bestimmungen des relativen Blutkörperchenvolumens mit Hämatokriten wurden nicht ausgeführt, da letzteres Verfahren relativ große Blutentnahmen fordert, die wir zu vermeiden suchten. Die Endresultate der Versuche wurden in Zahlen ausgedrückt, welche das Verhältnis des im Gesamtblut bzw. Plasma enthaltenen Farbstoffs (in Milligrammen) zur eingeführten Gewichtsmenge desselben in Prozenten angaben.

## I. Das erste Erscheinen des Farbstoffs im Blute nach intraperitonealer Injektion.

Spezielle Versuche (fünf), in denen Blutuntersuchungen jede 2 bis 3 Minuten nach der Injektion während der ersten 10 bis 15 Minuten gemacht wurden, zeigten, daß die ersten Spuren des Farbstoffs im Blute schon 2 bis 3 Minuten nach der Injektion nachgewiesen werden können; bei kleineren Dosen der eingeführten Farbe — unter 0,1 g — erscheinen sie etwas später, 4 bis 5 Minuten nach der Injektion. Daß es in diesen Versuchen wirklich um die Resorption der Farbe aus der Bauchhöhle sich handelte, nicht aber um das direkte Eintreten der Farbe ins Gefäßsystem infolge der Gefäßläsionen bei der Injektion, zeigten zwei spezielle Kontrollversuche. In letzteren wurde die Trypanblaulösung in eine vorher tief eingebrannte Stelle der Linea alba injiziert und auf solche Weise das direkte Eintreten der Farbenlösung ins Blutgefäßsystem völlig ausgeschlossen. Auch in diesen zwei Versuchen erschienen die ersten Spuren des Farbstoffes im Blute 2 bis 3 Minuten nach der Injektion. Da bei der Sektion der Versuchstiere die Lymphe des D. thoracicus stets tief blau gefärbt gefunden wurde, so lag der Gedanke nahe, daß die ersten Spuren des Farbstoffes im Blute aus der Lymphe des D. thoracicus stammten. Es lag daher viel daran, den Zeitpunkt zu bestimmen, an dem die ersten Portionen der farbeenthaltenden Lymphe in die Blutbahn eintreten. Zu diesem Zwecke wurde an drei Kaninchen der linke D. thoracicus an seiner Mündungsstelle freigelegt. Wenn nun solchen Kaninchen die Farblösung intraperitoneal injiziert wurde, so konnten die ersten Portionen der gefärbten Lymphe im Ductus 3 bis 4 Minuten nach der Injektion beobachtet werden. Zu derselben Zeit gemachte Blutuntersuchungen zeigten, daß in den zu besprechenden Versuchen die ersten Spuren des Farbstoffes im Blute 4 bis 5 Minuten nach der Injektion entdeckt werden konnten. Somit erschien in diesen Versuchen die Farbe im Blute erst *nach* dem Eintreten der gefärbten Lympheportionen in den Blutstrom oder vielleicht gleichzeitig mit ihm. In zwei anderen Versuchen wurden an zwei Kaninchen die Vena cava sup. (medial von der Mündung der Vena subcl.) und die Vena

subclavia sin. (½ bis 1 cm lateral von der Mündung der Vena jugul. sin.) unterbunden und auf solche Weise das Eintreten der Lymphe des linken Lymphstranges in die Blutbahn völlig ausgeschlossen [vgl. *Adler*[1]) und *Meltzer*, *Danielsen*[2]) u. a.]. Blutuntersuchungen, die bei diesen Tieren nach den Farbeninjektionen in die Bauchhöhle gemacht wurden, zeigten, daß unter solchen Bedingungen die ersten Spuren des Farbstoffes im Blute bedeutend *später* als unter normalen Bedingungen erscheinen: statt der normalen 2 bis 3 Minuten nach der Injektion erschienen die ersten Farbenspuren im Blute in einem dieser Versuche 8 bis 9 Minuten nach der Injektion; ebenso in dem zweiten Versuche — statt 3 bis 4 Minuten erst nach 13 bis 14 Minuten[3]).

Die angeführten Versuchsresultate zeigen somit, daß im Prozesse des Farbstoffsübertritts ins Blut infolge der Farbenresorption das Ergießen der gefärbten Lymphe in den Blutstrom eine große Rolle spielt. *Augenscheinlich ist das Lymphgefäßsystem an der Resorption aus der Bauchhöhle des von uns gebrauchten kolloidalen Farbstoffs wie auch anderer ungefärbter Kolloide* [s. die Arbeiten von *Danielsen* (l. c.), *Nakashima*[4]), *Hamburger* (l. c.) u. a.] *beteiligt*. Ob aber die Lymphgefäße den einzigen Resorptionsweg des betreffenden kolloidalen Farbstoffes darstellen oder nicht, soll in einer der späteren Mitteilungen ausführlicher besprochen werden.

## II. Die Mengenverhältnisse der Farbe im Blute nach intraperitonealer Injektion.

### a) *Das Anwachsen der Farbstoffmenge im Blute.*

Hierzu gehören drei spezielle Versuche, in denen während der ersten und zweiten Stunde nach der Injektion häufigere (jede 5 bzw. 15 Minuten) Blutuntersuchungen gemacht wurden. Wie es das unten angeführte Resultat des Versuchs 63 und die hinzugehörige Kurve (Abb. 1) zeigen, ist das Anwachsen der Farbenmenge im Blute während der ersten Hälfte der ersten Stunde stärker ausgesprochen als während der zweiten.

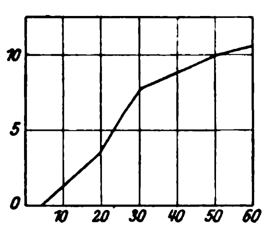


Abb. 1. Auf der Abszisse sind die Minuten abgetragen, auf der Ordinate der Prozentgehalt an Farbe im Gesamtblut, bezogen auf die injizierte Farbenmenge.

---

[1]) *Adler* und *Meltzer*, Centralbl. f. Physiol. 1896.

[2]) *Danielsen*, Beitr. z. klin. Chirurgie 87, 1913.

[3]) Noch größer würde wahrscheinlich die Verspätung in dem Falle sein, wenn wir auch den *rechten* D. thoracicus unterbunden hätten, denn beim Kaninchen ist der rechte D. thoracicus ebenso stark ausgebildet, wie der linke (*Krause*, Die Anatomie des Kaninchens, 1884). Leider mußten wir aber auf die Unterbindung beider Lymphstränge zugleich aus rein technischen Gründen (Unterbindung beider für Blutentnahmen nötiger Vena jugul.) verzichten.

[4]) *Nakashima*, Pflügers Arch. 158, 1914.

*Versuch 63.*

| | | |
|---|---|---|
| 5 | Minuten nach der Injektion . . | Spuren von Farbe[1] |
| 10 | „ „ „ „ . . | „ „ „ [1] |
| 15 | „ „ „ „ . . | „ „ „ [1] |
| 20 | „ „ „ „ . . | 3,6 Proz. der eingeführten Farbenmenge |
| 25 | „ „ „ „ . . | 6,0 „ „ „ „ |
| 30 | „ „ „ „ . . | 7,8 „ „ „ „ |
| 35 | „ „ „ „ . . | 8,4 „ „ „ „ |
| 40 | „ „ „ „ . . | 8,9 „ „ „ „ |
| 45 | „ „ „ „ . . | 9,5 „ „ „ „ |
| 50 | „ „ „ „ . . | 9,8 „ „ „ „ |
| 55 | „ „ „ „ . . | 10,2 „ „ „ „ |
| 60 | „ „ „ „ . . | 10,6 „ „ „ „ |

Interessanterweise treffen wir überhaupt während der ganzen ersten Stunde ein stärkeres Anwachsen der Farbenmenge als während der zweiten Stunde nach der Injektion. Das unten angeführte Resultat des Versuchs 18 mit der Kurve (Abb. 2) kann zur Illustration des Gesagten dienen.

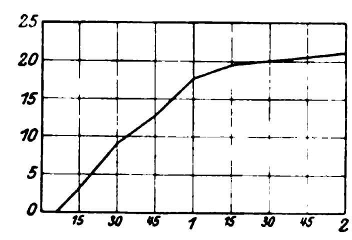



Abb. 2. Auf der Abszisse sind die Minuten und die Stunden abgetragen, auf der Ordinate der Prozentgehalt an Farbe im Gesamtblut, bezogen auf die injizierte Farbenmenge.

Die Verdünnung des Blutes der Versuchstiere infolge der häufigen Blutentnahmen konnte kaum auf den Charakter der Kurven von Einfluß sein, weil die entnommenen Blutmengen relativ sehr gering waren.

*Somit geschieht das Anwachsen der Farbenmenge im Blute um so schneller, je weniger Zeit nach der Farbeninjektion in die Bauchhöhle verflossen ist.* Diese Erscheinung kann dadurch erklärt werden, daß, je weniger Zeit vom Moment der Injektion verflossen ist, desto größere Mengen der injizierten Substanz in der Bauchhöhle vorhanden sind; mit fortschreitender Resorption dagegen werden diese Mengen immer kleiner.

*b) Der maximale Gehalt des Farbstoffs im Blute.*

Die hierzu gehörigen speziellen Versuche (drei), in denen Blutuntersuchungen jede Stunde während der ersten Periode nach der Injektion ausgeführt wurden, sowie viele andere zeigten, daß die Periode des Anwachsens der Farbenmenge im Blute ungefähr 2 bis 3 Stunden dauert. *Der maximale Farbengehalt des Blutes fällt ungefähr in den*

---

[1] Die ersten quantitativen Bestimmungen der Farbenmenge im Blute sind bei Dosen unter 0,1 g pro Kilogramm nur 20 bis 30 Minuten nach der Injektion möglich; bei größeren Dosen (über 0,1 g pro Kilogramm) können kolorimetrische Bestimmungen des Farbstoffs im Plasma schon früher gemacht werden, etwa 12 bis 15 Minuten nach der Injektion.

*Zeitraum von 2½ bis 3½ Stunden nach der Injektion.* Zur Illustration des Gesagten kann folgender Versuch (65, Kurve Abb. 3) dienen.

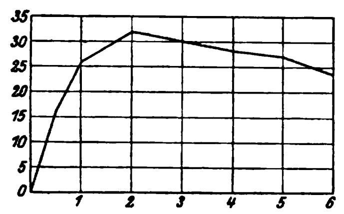



Abb. 3. Auf der Abszisse sind die Stunden abgetragen, auf der Ordinate der Prozentgehalt an Farbe im Gesamtblut, bezogen auf die injizierte Farbenmenge.

*Versuch 65.*

| | | |
|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion | . . . | 16 Proz. der eingeführten Farbenmenge |
| 1 „ „ „ „ | . . . | 20 „ „ „ „ |
| 2 Stunden „ „ „ | . . . | 32 „ „ „ „ |
| 3 „ „ „ „ | . . . | 30 „ „ „ „ |
| 4 „ „ „ „ | . . . | 28 „ „ „ „ |
| 5 „ „ „ „ | . . . | 27 „ „ „ „ |
| 6 „ „ „ „ | . . . | 24 „ „ „ „ |

Spezielle Versuche (vier), in denen Blutuntersuchungen während des maximalen Farbengehaltes im Blute jede Viertelstunde gemacht wurden, zeigten, daß *die Periode des maximalen Farbengehaltes des Blutes längere Zeit, etwa 1 bis 1½ Stunden, dauert.* Das unten angeführte Resultat des Versuchs 66 kann zur Illustration des Gesagten dienen (Kurve Abb. 4).

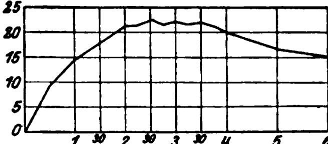



Abb. 4. Bezeichnungen wie bei Abb. 3.

*Versuch 66.*

| | | |
|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion | . . | 9,4 Proz. der eingeführten Farbenmenge |
| 1 „ „ „ „ | . . | 14,7 „ „ „ „ |
| 2 Stunden „ „ „ | . . | 21,3 „ „ „ „ |
| 2¼ „ „ „ „ | . . | 21,5 „ „ „ „ |
| 2½ „ „ „ „ | . . | 22,4 „ „ „ „ |
| 2¾ „ „ „ „ | . . | 21,4[1] „ „ „ „ |
| 3 „ „ „ „ | . . | 22,0[1] „ „ „ „ |
| 3¼ „ „ „ „ | . . | 21,5[1] „ „ „ „ |
| 3½ „ „ „ „ | . . | 21,8[1] „ „ „ „ |
| 3¾ „ „ „ „ | . . | 21,0 „ „ „ „ |
| 4 „ „ „ „ | . . | 20,0 „ „ „ „ |
| 5 „ „ „ „ | . . | 16,5 „ „ „ „ |
| 6 „ „ „ „ | . . | 15,0 „ „ „ „ |

[1]) Die geringen Schwankungen des Farbengehaltes bei häufigeren Blutentnahmen, die auch auf der Kurve (Abb. 4) zu merken sind, sind augenscheinlich auf die Ungenauigkeiten der Methodik selbst zurückzuführen.

*c) Die Abnahme der Farbenmenge im Blute.*

Hierher gehören fünf spezielle Versuche, in denen Blutuntersuchungen 9, 12, 18, 24 und 48 Stunden nach der Farbeninjektion in die Bauchhöhle angestellt wurden. Außerdem wurden in einzelnen Versuchen noch spätere Blutuntersuchungen gemacht — 3, 4, 10 bis 15 Tage nach der Injektion. Alle diese Versuche zeigen, daß es kaum möglich ist, die Zeitdauer genau zu bestimmen, während welcher das Blut sich vollständig von der Farbe befreit, denn die Dauer dieser Zeitperiode scheint sowohl von der Größe der Dose der eingeführten Farbe, als auch von rein individuellen Eigentümlichkeiten des Versuchstieres abhängig zu sein. Die Versuchsresultate zeigen, daß bei der Menge der injizierten Farbe gleich 0,1 g (pro Kilogramm Gewicht des Versuchstieres) *diese Zeitperiode tagelang — 1 bis 1½ Wochen — dauert.* Somit muß zwischen zwei aufeinanderfolgenden parallelen Versuchen auf einem und demselben Tiere ein Zwischenraum von mindestens einer Woche verfließen; denn sonst ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß im Blute des Versuchstieres Spuren vom Farbstoff von der ersten Injektion noch vorhanden sind.

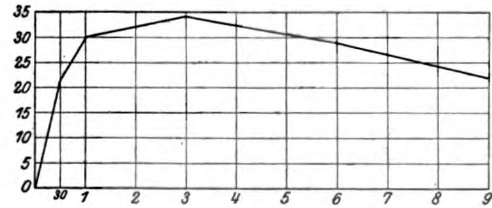


Abb. 5. Bezeichnungen wie bei Abb. 3 und 4.

*Die Abnahme der Farbenmenge im Blute vollzieht sich sehr langsam und allmählich,* was an den oben angeführten Kurven 3 und 4 zu sehen ist. Besonders auffallend ist der Kontrast zwischen dem relativ schnellen Anwachsen der Farbenmenge im Blute und der verhältnismäßig langsamen Abnahme derselben. Zur Illustration des eben Gesagten kann noch folgender Versuch (9, Kurve Abb. 5) dienen.

*Versuch 9.*

| | | |
|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . | 21 | Proz. der eingeführten Farbenmenge |
| 1 „ „ „ „ . . . | 30 | „ „ „ „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . | 34 | „ „ „ „ |
| 6 „ „ „ „ . . . | 29 | „ „ „ „ |
| 9 „ „ „ „ . . . | 22 | „ „ „ „ |

Somit zeigten zahlreiche (über 100) von mir mit der Injektion von Trypanblau in die Bauchhöhle angestellte Versuche, daß die Schwankungen des Farbengehaltes des Blutes bei der Farbenresorption sich im allgemeinen folgendermaßen gestalten. In den ersten Stunden nach der Injektion nimmt die Farbenmenge im Blute immer zu, bis schließlich ein gewisser Maximalgehalt der Farbe im Blute erreicht

wird. Die maximale Farbenmenge im Blute bleibt eine Zeitlang bestehen, was aber nur dann genügend deutlich hervortritt, wenn die Blutuntersuchungen in kurzen Zeitintervallen nacheinander folgen. Erst 3 bis 4 Stunden nach der Injektion der Farbe tritt das allmähliche Verschwinden des Farbstoffes aus dem Blute klar in den Vordergrund. Somit können wir auf der Kurve des Farbengehaltes des Blutes drei Hauptperioden unterscheiden, nämlich: 1. *das Anwachsen der Farbenmenge im Blute* während der ersten Zeit nach der Injektion, 2. *den maximalen Farbengehalt des Blutes* nach einiger Zeit post injectionem und 3. *die allmähliche Abnahme der Farbenmenge im Blute* in der späteren Zeit nach der Injektion. Die genannten drei Hauptperioden sind auf der Kurve 5 besonders gut zu sehen.

## III. Die Abhängigkeit der Farbenmenge im Blute von der in die Bauchhöhle injizierten Farbenmenge sowie von der Konzentration der injizierten Lösung.

Die absolute Farbenmenge im Blute ist in erster Linie von der absoluten Menge des injizierten Farbstoffes abhängig. Wie es spezielle Versuche gezeigt haben, ist der Farbengehalt des Blutes um so größer, je größer die Menge der Farbe ist, die intraperitoneal eingeführt wird. Unten sind die Resultate zweier hierzugehöriger Versuche (12 und 20) an Tieren vom gleichen Gewicht angeführt. Wir sehen, daß in dem Versuch, wo das Tier größere Farbenmengen intraperitoneal bekam (Versuch 12, ausgezogene Kurve auf Abb. 6), auch im Blute größere Farbenmengen beobachtet wurden.

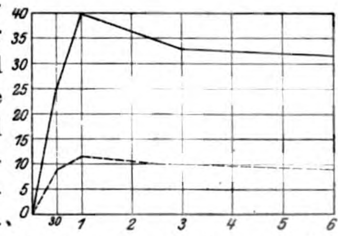



Abb. 6. Ausgezogene Kurve = Farbengehalt von 100 ccm Plasma in mg im Versuche Nr. 12 (Dose: 0,14 g Farbe); punktierte Kurve = Farbengehalt von 100 ccm Plasma in mg im Versuche Nr. 20 (Dose: 0,06 g Farbe).

*Versuch 12.*

Gewicht des Tieres 1478 g. Eingeführt 0,14 g Farbe.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 27,0 mg | Farbe in | 100 ccm | Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 40,1 „ | „ „ | 100 „ | „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 32,8 „ | „ „ | 100 „ | „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 31,9 „ | „ „ | 100 „ | „ |

*Versuch 20.*

Gewicht des Tieres 1470 g. Eingeführt 0,06 g Farbe.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 8,9 mg | Farbe in | 100 ccm | Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 12,5 „ | „ „ | 100 „ | „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 9,7 „ | „ „ | 100 „ | „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 9,0 „ | „ „ | 100 „ | „ |

Der Farbengehalt des Blutes ist ferner im großen Maße *von der Menge der pro Kilogramm eingeführten Farbe abhängig*. Unten sind die Resultate zweier hierzugehöriger Versuche (18 und 7) angeführt. Wir sehen, daß in dem Versuche, wo das Tier größere Farbenmengen pro Kilogramm intraperitoneal bekam (Versuch 18, ausgezogene Kurve Abb. 7), auch im Blute größere Farbenmengen beobachtet wurden. *Die absoluten Mengen der intraperitoneal eingeführten Farbe waren in beiden zu besprechenden Versuchen die gleichen.*

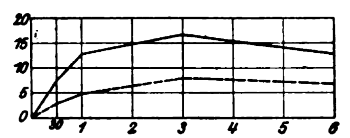



Abb. 7. Ausgezogene Kurve = Farbengehalt von 100 ccm Plasma in mg im Versuche Nr. 18 (Dose pro kg: 0,0725 g); punktierte Kurve = Farbengehalt von 100 ccm Plasma in mg im Versuche Nr. 7 (Dose pro kg: 0,012 g).

*Versuch 18.*

Gewicht des Tieres 1000 g. Injiziert 7,25 ccm 1proz. Lösung.
Pro Kilogramm 0,0725 g.

| | | | |
|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 7,1 mg Farbe | in 100 ccm | Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 13,4 „ „ | „ 100 „ | „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 16,7 „ „ | „ 100 „ | „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 12,8 „ „ | „ 100 „ | „ |

*Versuch 7.*

Gewicht des Tieres 2700 g. Injektion 7,25 ccm 1proz. Lösung.
Pro Kilogramm 0,012 g.

| | | | |
|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 2,8 mg Farbe | in 100 ccm | Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 4,7 „ „ | „ 100 „ | „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 7,9 „ „ | „ 100 „ | „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 7,0 „ „ | „ 100 „ | „ |

Der Unterschied zwischen den Resultaten der beiden angeführten Versuche ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß beim Tiere mit größerem Körpergewicht auch größere Mengen Blut (bzw. Plasma) vorhanden sind. Gleiche Farbstoffmengen, die den beiden Tieren von verschiedenem Gewicht eingeführt wurden, wurden beim Tiere von größerem Gewicht mit größerem Flüssigkeitsvolumen vermischt als beim Tiere von kleinerem Gewicht. Daraus können wir den Schluß ziehen, daß *für den Farbengehalt des Blutes bei der Resorption der Farbe aus der Bauchhöhle die Menge des Gesamtblutes von größerer Bedeutung ist als die Größe der Resorptionsfläche.* Denn wenn der Farbengehalt des Blutes stärker durch die Größe der Resorptionsoberfläche beeinflußt würde, so müßten wir bei Tieren größerer Dimensionen — ceteris paribus — auch größeren Farbengehalt im Blute finden, was

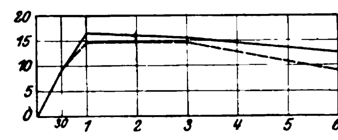



Abb. 8. Ausgezogene Kurve = Farbengehalt von 100 ccm Plasma in mg im Versuche Nr. 1 (Dose: 0,1 g pro kg, 0,15 g absolut); punktierte Kurve = Farbengehalt von 100 ccm Plasma in mg im Versuche Nr. 8 (Dose: 0,1 g pro kg, absolut 0,23 g).

aber nicht der Fall war. Dasselbe Resultat ergaben auch meine weiteren Versuche in dieser Richtung (im ganzen zehn). Diese Versuche haben unter anderem gezeigt, daß bei gleicher Dosierung der eingeführten Farbe pro Kilogramm Körpergewicht auch ungefähr gleiche Farbenmengen im Blute wiedergefunden werden, wenn auch die *absoluten* Mengen des eingeführten Farbstoffes nicht die gleichen sind. Die unten angeführten Resultate der Versuche 1 und 8 (Kurve Abb. 8) können zur Illustration des Gesagten dienen.

*Versuch 1.*

Gewicht des Tieres 1560 g. Injektion 15,6 ccm 1 proz. Lösung. Dose pro Kilogramm 0,1 g.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 9,4 mg | Farbe | in 100 | ccm Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 16,5 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 15,3 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 12,3 „ | „ | „ 100 | „ „ |

*Versuch 8.*

Gewicht des Tieres 2370 g. Injektion 23,7 ccm 1 proz. Lösung. Dose pro Kilogramm 0,1 g.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 9,9 mg | Farbe | in 100 | ccm Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 14,5 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 14,5 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 8,7 „ | „ | „ 100 | „ „ |

Der Farbstoffgehalt des Blutes ist endlich einigermaßen auch *von der Konzentration der eingeführten Farbenlösung abhängig*. Diese Abhängigkeit spielt aber scheinbar keine so große Rolle wie die oben angeführten Faktoren. Im großen und ganzen zeigten die vier hierzugehörigen Versuche, daß bei der Injektion 1 proz. Farbenlösung relativ größere Farbenmengen im Blute gefunden wurden als nach der Injektion 2 proz. Farbenlösung (s. hierzu Versuche 14 und 25).

*Versuch 14.*

Dose 0,1 g pro Kilogramm, 1 proz. Lösung.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 20,1 mg | Farbe | in 100 | ccm Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 22,2 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 45,1 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 33,6 „ | „ | „ 100 | „ „ |

*Versuch 25.*

Dose 0,1 g pro Kilogramm, 2 proz. Lösung.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ½ Stunde nach der Injektion . . . . | 11,7 mg | Farbe | in 100 | ccm Plasma |
| 1 „ „ „ „ . . . . | 18,8 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 3 Stunden „ „ „ . . . . | 27,3 „ | „ | „ 100 | „ „ |
| 6 „ „ „ „ . . . . | 26,5 „ | „ | „ 100 | „ „ |

Aus den angeführten Versuchsresultaten ist schließlich ersichtlich, daß *der allgemeine Charakter* der Schwankungen des Farbengehaltes

des Blutes weder von der Menge der eingeführten Farbe noch von der Konzentration der Farbenlösung beeinflußt wird, obgleich die *Mengenverhältnisse* des Farbstoffes im Blute verschieden waren.

### IV. Der Farbstoffgehalt im arteriellen und im venösen Blute.

Interessant erschien es mir, außer den Bestimmungen der Farbstoffmengen im venösen Blute (aus der Vena jugularis) auch solche im arteriellen Blute (aus der Art. carotis) anzustellen, da a priori eine Differenz zwischen diesen beiden Mengen nicht auszuschließen war: wird doch das Blut, welches durch die Venen aus den Geweben zurückströmt, einen Teil des Farbstoffes denselben abgeben können.

Nun erwies es sich aber, daß, wenn nach intraperitonealer Farbeninjektion gleichzeitig der Vena jugularis und der Arteria carotis Blut entnommen wird, der Farbstoffgehalt des arteriellen Blutes sich sehr wenig von dem Farbengehalt des venösen Blutes unterscheidet. Der angebliche Unterschied kann auf die Ungenauigkeiten der Methodik zurückgeführt werden. Das unten angeführte Resultat des hierzugehörenden Versuchs 11 kann zur Illustration des Gesagten dienen.

*Versuch 11.*

Art. carotis.

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ½ | Stunde | nach | der | Injektion | . . | 5,0 | Proz. | der | eingeführten | Farbenmenge |
| 1 | „ | „ | „ | „ | . . | 9,1 | „ | „ | „ | „ |
| 2 | Stunden | „ | „ | „ | . . | 12,7 | „ | „ | „ | „ |
| 3 | „ | „ | „ | „ | . . | 14,0 | „ | „ | „ | „ |
| 4 | „ | „ | „ | „ | . . | 15,9 | „ | „ | „ | „ |
| 5 | „ | „ | „ | „ | . . | 15,1 | „ | „ | „ | „ |
| 6 | „ | „ | „ | „ | . . | 13,8 | „ | „ | „ | „ |

Vena jugul.

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ½ | Stunde | nach | der | Injektion | . . | 4,1 | Proz. | der | eingeführten | Farbenmenge |
| 1 | „ | „ | „ | „ | . . | 10,4 | „ | „ | „ | „ |
| 2 | Stunden | „ | „ | „ | . . | 12,8 | „ | „ | „ | „ |
| 3 | „ | „ | „ | „ | . . | 16,0 | „ | „ | „ | „ |
| 4 | „ | „ | „ | „ | . . | 17,6 | „ | „ | „ | „ |
| 5 | „ | „ | „ | „ | . . | 14,1 | „ | „ | „ | „ |
| 6 | „ | „ | „ | „ | . . | 12,9 | „ | „ | „ | „ |

*Somit gibt es in bezug auf den Farbengehalt nach intraperitonealer Farbstoffinjektion zwischen dem arteriellen und dem venösen Blute keinen wesentlichen Unterschied.*

### Zusammenfassung.

Theoretisch ist der Gehalt der resorbierten Substanz im Blute nicht nur von der Intensität der Resorption an der Einführungsstelle der Substanz abhängig, sondern auch von der Intensität, mit der die

Substanz gleichzeitig *aus* der Blutbahn in der einen oder der anderen Weise verschwindet. Speziell die Abwanderung aus dem Blute des Farbstoffes Trypanblau habe ich in einer früheren Arbeit studiert[1]). Angaben darüber sind auch in den Untersuchungen von *Seyderhelm* und *Lampe*[2]) und von *Büttner*[3]) enthalten. Der Farbengehalt im Blute nach intraperitonealer Einführung des Farbstoffes wird im großen und ganzen auch von dem Prozeß der Farbenabwanderung aus dem Blute beeinflußt. Wir können uns vorstellen, daß jede resorbierte, d. h. in das Blut eingetretene Farbenportion nur eine gewisse Zeitlang im Blute verweilt und allmählich aus der Blutbahn verschwindet. Wenn wir nun in unseren Versuchen während der ersten 3 bis 4 Stunden nach der Injektion ein *fortdauerndes Anwachsen der Farbenmenge im Blute* notiert hatten, so ist das nur dadurch zu erklären, daß in den ersten Stunden nach der Injektion die Resorption besonders stark ist und die Menge der in der Zeiteinheit *in* die Blutbahn eintretenden Farbe größer ist als die Menge der gleichzeitig *aus* der Blutbahn austretenden. Da aber mit der fortdauernden Resorption die Mengen der Farbe an der Resorptionsstelle (d. h. in der Bauchhöhle) immer kleiner werden, muß auch die Menge der in der Zeiteinheit in die Blutbahn eintretenden Farbe je später, um so geringer werden. Schließlich können wir uns einen solchen Moment vorstellen, in dem *in das Blut ungefähr ebensoviel Farbe eintritt, wieviel gleichzeitig aus dem Blute ausgeschieden wird.* Von einem solchen Moment angefangen, hört das weitere Anwachsen der Farbstoffmenge im Blute auf. Auf unseren Kurven bezeichneten wir diesen Moment als „*Maximum des Farbengehaltes im Blute*“. Somit fallen das Maximum des Farbengehaltes im Blute und die intensivste Resorption zeitlich *nicht* zusammen, sondern *das erste ist die Folge des zweiten.* Sobald nun infolge der Erschöpfung der Farbenvorräte am Resorptionsorte die Mengen der in die Blutbahn eintretenden Farbe bedeutend kleiner werden als die Mengen der gleichzeitig aus dem Blute austretenden, *wird auch die gesamte Farbenmenge im Blute immer kleiner.* Dann tritt der Prozeß der Farbenabwanderung in den Vordergrund. Die Abnahme der Farbenmenge verläuft um so langsamer, da während dieser Periode — besonders am Anfang — doch einige Mengen des Farbstoffes noch weiter resorbiert werden. Die Richtigkeit der oben angeführten Erklärung wurde von mir auch durch direkte Untersuchungen des Gehaltes der Bauchhöhle nach der Injektion der Trypanblaulösung bestätigt. Die Beschreibung der hierzugehörigen Versuche soll in der nächstfolgenden Mitteilung angeführt werden.

---

1) *Okuneff*, Pflügers Arch. **201**, 1923.
2) *Seyderhelm* u. *Lampe*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **30**. H. **1/6**, **1922.**
3) *Büttner*, Inaug.-Diss. Göttingen, 15. Mai 1923.

Es ist interessant, daß die Verfasser, welche die Resorption aus der Bauchhöhle nach der Ausscheidung der Substanz mit dem Harne studiert hatten [*Schnitzler* und *Ewald*[1]), *Klapp*[2]), *Freytag*[3])], für das Maximum der Ausscheidung ungefähr dieselbe Frist angeben, zu welcher auch ich das Maximum des Farbengehaltes im Blute beobachten konnte. So fanden z. B. *Schnitzler* und *Ewald*, daß Jodsalze, Kalium ferrocyan. und Salicylsäure in größter Menge 1 bis 3 Stunden nach der Injektion ausgeschieden werden. Die Kurven, die *Freytag* für die Ausscheidung des in die Bauchhöhle injizierten Milchzuckers anführt, erinnern im großen und ganzen sehr an die unsrigen. Dasselbe kann man auch von den Zahlen sagen, die *Klapp* anführt.

Da meine Untersuchungen über die Resorption aus der Bauchhöhle noch nicht abgeschlossen sind, so möchte ich Schlüsse allgemeinen Charakters — über die Resorptionswege, den Mechanismus der Resorption und anderes — vorerst unterlassen. Eins möchte ich aber schon an dieser Stelle hervorheben. Die gewöhnlich zur Erklärung der Resorptionserscheinungen aus der Bauchhöhle herangezogenen Momente — Diffusion und osmotische Druckdifferenzen — lassen im Stich, sobald wir, wie in unserem Falle, mit der Resorption eines Kolloids zu tun haben, denn bekanntlich ist die Diffusion der Kolloide praktisch gleich 0 zu setzen, der osmotische Druck kolloidaler Lösungen ist ebenfalls verschwindend klein (speziell für Trypanblau s. bei *Schulemann*, l. c.). Folglich müssen wir hier zur Erklärung des Resorptionsmechanismus zu anderen Annahmen greifen.

---

[1]) *Schnitzler* und *Ewald*, Deutsch. Zeitschr. f. Chirurgie **41**, 1895.
[2]) *Klapp*, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chirugie **10**, 1902.
[3]) *Freytag*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **55**, 1906.

# Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz und Insulin[1]).

## I. Mitteilung:

## Versuche an Normaltieren.

Von

**Theodor Brugsch, A. Benatt, Hans Horsters** und **R. Katz.**

(Aus der II. medizinischen Klinik der Charité, Berlin.)

*(Eingegangen am 6. März 1924.)*

Mit 8 Abbildungen im Text.

Die Entdeckung des Insulins bringt die Frage des intermediären Kohlenhydratumsatzes erneut ins Rollen. Die Entdeckung des Pankreasdiabetes durch *Minkowski* und *Mering* hat die Frage des Abbaues der Glucose erstmalig auf den Plan gebracht, wobei die Entdeckung des glykolytischen Ferments des Blutes durch *Lépine* — heute wissen wir, daß es sich um die Glykolyse seitens der roten Blutkörperchen handelt — vorübergehend in den Vordergrund trat, um dann allmählich auf einen für das ganze Problem des Kohlenhydratumsatzes geringen Wert zurückgeführt zu werden. Dann ist die Frage des oxydativen Zuckerabbaues brennend geworden, besonders im Hinblick auf die Frage einer gewissen Aktivierung der oxydativen Gewebsfermente seitens des Pankreas, für die *Minkowski*, unser Meister der klassischen Experimentalkunst, in richtiger Einfühlung frühzeitig eintrat. Auch über diese Versuche ist die Wissenschaft geschritten, ohne daß die Ergebnisse Bausteine für das Gebäude der Theorie geworden sind. Vieles, was heute unter anderen Gesichtspunkten und auch besserer Methodik von neuem aufgefunden wird, ist in diesen Versuchen bereits enthalten; daß sich aber diese Anschauungen nicht durchsetzen konnten, lag wohl an der Unsicherheit der experimentellen Grundlagen, die erst mit der Zeit, ganz besonders aber im letzten Jahrzehnt durch die Verbesserung der technischen Methoden befestigt worden sind[2]).

---

[1]) Von dieser Arbeit ist zur Wahrung unserer Priorität eine vorläufige Mitteilung in der Med. Klinik 1924, Nr. 1 unter dem Titel: Das Insulinprinzip und der Diabetes mellitus erschienen.

[2]) Es sei hier auf zwei heute sehr lesenswerte Zusammenstellungen aus den Jahren 1898 und 1908 von *Ferdinand Blumenthal* verwiesen: Über Organsafttherapie bei Diabetes mellitus, Zeitschr. f. diast. u. phys. Therap. **1**, H. 3, 1898. Ferner Glykolyse und Diabetes, Ergebnisse der wissenschaftlichen Medizin; herausgegeben von Carl Lewin bei Klinkhardt, Leipzig.

Fortschritte und Fundamente für unsere heutigen Lehren vom intermediären Kohlenhydratumsatz bedeuten die Arbeiten von *J. Parnas* und *J. Baer*[1]). Diese zeigen, daß der Hauptweg des Kohlenhydratabbaues über Milchsäure geht; sie zeigen auch, daß bei der Schildkrötenleber sich eine Glykogenbildung durch Milchsäure erzielen läßt. Auch die *Embden*schen Arbeiten sind Fundamente unserer heutigen Anschauungen über den Kohlenhydratumbau. Erwähnt seien als bedeutungsvoll die Arbeiten von *Embden* und *Fr. Kraus*[2]), die dartun, daß die glykogenreiche Hundeleber bei der Durchströmung Milchsäure bildet, und daß die aus dem Glykogen stammende Glucose die Quelle der Milchsäure ist, hinzuweisen sei auch auf die Arbeit von *S. Oppenheimer*[3]), der fand, daß bei der Durchströmung der Hundeleber Lävulose leichter in Milchsäure übergeht als Glucose. Dann folgen die Arbeiten *Embdens* und seiner Schule[4]) über das Lactacidogen, die uns zeigen, daß der Kohlenhydratabbau im Muskel an die Phosphorsäure gebunden ist, womit gewisse Parallelen für den fermentativen Abbau des Zuckers durch Hefe (*Harden* und *Young*) geschaffen sein könnten, freilich zeigten *Neuberg*[5]) und *Euler*[6]), daß die Veresterung bei der Zuckergärung nicht notwendig ist. Inzwischen bringt auch *O. Meyerhof*[7]) seine muskelphysiologischen Arbeiten zu einem gewissen Abschluß, die uns ein Bild vom Abbau und Aufbau des Glykogens in der Muskulatur liefern, wie es sich formelmäßig fixieren läßt.

Der Muskel bildet seine Energie durch Spaltung und oxydiert Glykose unter Neubildung von Glykogen:

$$\text{Anaerobe Phase} \left\{ \begin{array}{l} 5(C_6H_{10}O_5)_n + 5\,H_2O + 8\,H_3PO_4 \\ \rightarrow 4\,C_6H_{10}O_4\,(H_2PO_4)_2 + C_6H_{12}O_6 + 8\,H_2O \\ \rightarrow 8\,C_3H_6O_3 + 8\,H_3PO_4 + C_6H_{12}O_6, \end{array} \right.$$

$$\text{Oxydative Phase} \left\{ \begin{array}{l} 8\,C_3H_6O_3 + 8\,H_3PO_4 + C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \\ \rightarrow 4\,C_6H_{10}O_4\,(H_2PO_4)_2 + 6\,CO_2 + 14\,H_2O \\ \rightarrow 4(C_6H_{10}O_5)_n + 8\,H_3PO_4 + 6\,CO_2 + 10\,H_2O. \end{array} \right.$$

Die Festlegung der oxydativen Synthese durch *O. Meyerhof* bildet ein bedeutungsvolles Moment für die Physiologie des Kohlenhydratumsatzes, werden doch damit Vorstellungen bewiesen, die schon *Hermann* 1910 in seiner Physiologie ausgesprochen hat, und die

[1]) Zuckerabbau und Zuckeraufbau im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. **41**, 386, 1912.

[2]) Diese Zeitschr. **45**, 1, 1912.

[3]) Ebendaselbst **45**, 30, 1912.

[4]) Siehe die Arbeiten von *Embden, Griesbach* und *Schmitz, Embden* und *Laquer, Embden, Griesbach* und *Laquer* in der Zeitschr. f. phys. Chem. **93**.

[5]) *Neuberg*, diese Zeitschr. **88**, 244, 1918; **103**, 320, 1920.

[6]) *v. Euler*, ebendaselbst **86**, 337, 1918.

[7]) Pflügers Arch. **175**, 182, 185, 188, 191, 195; ferner die Zusammenfassung in den Ergebn. f. Physiol. von *Asker* und *Spiro* **22**, 1923.

sich auch *J. Parnas* und *J. Baer* 1912 in ihrer oben erwähnten Arbeit zu eigen gemacht haben[1]).

Das Prinzip der oxydativen Synthese rückt die Bedeutung der Oxydationen und die Bedeutung der Spaltung als Energiequellen in ein derartig grelles Licht, daß es sich fragt, ob nicht überhaupt das Prinzip des Lebens in der Spaltung beruht und die oxydative Synthese nur die Voraussetzung für die Bildungsmöglichkeit der spaltungsfähigen Substanz darstellt. In diesem Sinne greifen die Vorstellungen des Kohlenhydratumbaues über den engen Rahmen der Muskelphysiologie heraus und lassen uns die Frage aufbringen, ob nicht der gesamte Umbau im Organismus im analogen Sinne abläuft, wie er etwa durch die obige Formel zum Ausdruck gebracht wird, ohne daß etwa die zwangsweise Erfüllung der *O. Meyerhof*schen Formel zur Voraussetzung gemacht wird.

Für die Frage des Kohlenhydratumsatzes von fundamentaler Bedeutung sind zugleich die Arbeiten *C. Neubergs* und seiner Schule, die uns den Abbau der Kohlenhydrate bei niederen Organismen, besonders den Hefen, Pilzen und Bakterien, kennen lehren mit Hilfe seines ingeniösen „Abfangverfahrens". Diese Untersuchungen hatten schon 1913 *Neuberg*[2]) zur Aufstellung seines Gärungsschemas geführt, wobei dem Acetaldehyd als Zwischenstufe im Abbau eine besondere Bedeutung deshalb zukommt, weil man dieses Zwischenprodukt mit der Methode von *Neuberg*, *Färber* und *Reinfurth*[3]) abfangen kann. Für die Leber sowie Muskulatur des Meerschweinchens gelang *Neuberg* in Experimenten mit überlebenden Zellen ebenfalls der Nachweis des Acetaldehyds[4]), so daß, wie namentlich auch die Insulinversuche von *Neuberg*, *Gottschalk* und *Strauss*[5]) an Leberbrei dartun, die Annahme berechtigt ist, daß für den Abbau der Kohlenhydrate über die Milchsäure hinaus ähnliche Vorgänge Platz greifen, wie bei den niederen Lebewesen.

---

Die Entdeckung des Insulins gibt nun, wie erwähnt, der ganzen Lehre des Kohlenhydratumsatzes erneute Impulse, denn im Insulin ist der Schlüssel gegeben, um einen abwegigen Kohlenhydratumsatz,

[1]) Die historische Gerechtigkeit erfordert die Erwähnung, daß schon 1905/06 *von Noorden* und *Embden* von einem Kreislauf der Kohlenhydrate im Organismus, über die Milchsäure gehend, gesprochen haben. (Vgl. Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffwechsels, N. F. I. 1906, Nr. 1.

[2]) *Neuberg*, Monogr. Jena, 1913.

[3]) *Neuberg* und Mitarbeiter, diese Zeitschr. **78**, 238, 1916; ebendaselbst **89**, 365, 1918; Ber. d. d. chem. Ges. **52**, 1677, 1919; diese Zeitschr. **106**, 281, 1920.

[4]) *Neuberg* und *Gottschalk*, Klin. Wochenschr. **2**, Nr. 31, 1923.

[5]) Deutsch. med. Wochenschr. **1923**, Nr. 45.

wie er nach Exstirpation des Pankreas durch das Bild des Diabetes mellitus zum Ausdruck kommt, wieder in normale Bahnen zu leiten. Mit dem Insulin muß es also möglich sein, experimentell den Kohlenhydratstoffwechsel zu modifizieren und dadurch sein Wesen zu erleuchten, andererseits muß aus den Modifikationen des intermediären Kohlenhydratstoffwechsels unter dem Einfluß des Insulins auch das Wesen des Hormons in seiner Angriffsweise geklärt werden. In diesem Sinne erfüllen auch unsere Untersuchungen eine doppelte Aufgabe. Bis jetzt sind trotz der großen Insulinliteratur, die seit der Entdeckung des Insulins im Jahre 1922 durch *Banting* und *Best* entstanden ist, noch keine Ansichten über den Wirkungsmechanismus des Insulins geäußert worden, die eindeutig und widerspruchslos die Insulinwirkung geklärt hätten. Im Gegenteil stecken die Ergebnisse voller Widersprüche. Wir sehen davon ab, hier eine ausführliche Schilderung der gesamten Insulinliteratur zu geben, die bis zu dem Zeitpunkte dieser Arbeit von *Staub*[1]) in der Klinischen Wochenschrift in drei zusammenhängenden Referaten wohl vollständig erstattet worden ist. Auf dieses Referat möchten wir als Ergänzung dieser Mitteilung verweisen.

Sichergestellt erscheinen in dem Mechanismus der Insulinwirkung die Tatsache der Hypoglykämie und die Verarmung des gesamten Organismus an Kohlenhydraten [*Dudley*, *Ward* und *Marrian*[2]), *Bissinger*, *Lesser* und *Zipf*[3])].

Sichergestellt erscheint auch, daß die Insulinwirkung hinsichtlich der Hypoglykämie sich nicht allein auf die Leber erstreckt, denn sonst würde bei entleberten Tieren nach *Mann* und *Magath*[4]) sich nicht noch durch Insulin eine Senkung des Zuckerspiegels erreichen lassen. In diesem Sinne bestehen also die Ansichten von *Noble* und *Macloed*[5]), ferner von *Bissinger*, *Lesser* und *Zipf*[3]) zu Recht, daß das Insulin die diastatische Leberfunktion nicht beeinträchtigt.

Andererseits bestehen Gegensätze, die auch in den Zusammenfassungen von *Macloed*[6]) und *H. A. Dale*[7]) zum Ausdruck kommen:

Wirksame Insulindosen lassen die Tiere glykogenarm werden, während umgekehrt die glykogenarme Leber eines pankreasdiabetischen Hundes, allerdings wenn er gefüttert worden ist, unter Insulin wieder glykogenreich wird. *Bissinger*, *Lesser* und *Zipf* konnten bei 18 Stunden hungernden weißen Mäusen nach intraperitonealer Einverleibung von

---

[1]) *Staub*, Klin. Wochenschr. 2, Nr. 43, 1923; 3, Nr. 2 u. 3, 1924.
[2]) Biochem. Journ. 17, 435, 1923.
[3]) Klin. Wochenschr. 2, 1923, Nr. 49.
[4]) Amer. Journ. of Physiol. 65, 403, 1923.
[5]) Journ. of Physiol. 58, 33, 1923.
[6]) Lancet 205, 198—204, 1923.
[7]) Ebendaselbst 204, Nr. 20, S. 989—993.

Dextrose unter Insulin ein dreimal so schnelles Verschwinden des Zuckers nachweisen als bei den nicht insulingespritzten Hungertieren. Derartige Gegensätzlichkeiten lassen die Bedeutung des Insulins im unklaren und zwingen zu einer systematischen Durcharbeit vor allem im intermediären Prozeß, da die Ergebnisse der Respirationsanalyse für die Frage des intermediären Kohlenhydratumsatzes nicht schlüssig sind.

## I.

Die erste Aufgabe zum Studium der Insulinwirkung bestand in der Verfolgung der Blutzuckerkurve unter der Einwirkung des Insulins. Es erübrigt sich, nähere Erläuterungen zu geben über die Durchführung der Versuche, da jedes Protokoll ohne weiteres die Verhältnisse übersehen läßt. Aus der großen Fülle unserer Beobachtungen möchten wir nur einige Punkte von allgemeinem Interesse herausgreifen. Da wir verschiedene Präparate verwandten [englisches Insulin (*Burrough, Welcome & Co*), ferner holländisches und amerikanisches (*Lilly*)], so läßt sich über die Wirksamkeit dieser Präparate im allgemeinen etwas aussagen. Das wirksamste Präparat stellt das amerikanische Ilesin (*Lilly*) dar, dem auch das englische Präparat nicht viel nachsteht, wohl aber das holländische Insulin. *Völlig versagt aber die Eichung aller dieser Präparate*; entweder haben die Präparate eine hypoglykämische Wirkung starken Grades oder nicht. Die Zahl der Einheiten tut es nicht, es handelt sich immer nur um die Qualität der Wirkung, während der Quantitätstiter versagt. Das liegt am Prüfungsobjekt, dem Kaninchen. 24stündiger Hunger vermochte durchaus nicht immer bei einem sonst wirksamen Präparat das Kaninchen zur starken Hypoglykämie zu bringen, selbst wenn Dosen von 20, 40 und mehr Einheiten injiziert wurden. Ja, wir mußten mitunter die Kaninchen 3 bis 4 Tage hungern lassen, ihnen 2 bis 3 Tage hintereinander 10 bis 20 Einheiten injizieren, um schließlich am vierten oder fünften Tage den hypoglykämischen Zustand zu erreichen, obgleich die Eichung des Präparates dahin lautet, daß eine Einheit diejenige Menge Insulins sei, die ein 2-kg-Kaninchen in den Zustand der Hypoglykämie mit einem Zuckerspiegel von 0,045 Proz. im Verlaufe von 2 Stunden bringt. Also die 40- bis 60fache Dosis wurde erst im Verlaufe von Tagen wirksam. Andere Kaninchen reagierten wieder bei 24stündigem Hunger mit einer Dosis von zehn Einheiten. Die Verschiedenheit der Wirkung hängt zweifellos von der Disposition des Kaninchens ab, die unseres Erachtens nicht bloß von der Füllung der Glykogenlager abhängt. Hier spielen individuelle Verhältnisse eine Rolle, die noch nicht völlig zu übersehen sind. Ein wichtiger Faktor, der bei der Beurteilung der Insulinwirkung nicht außer acht gelassen werden darf, ist die Haltbarkeit des Präparates. Wir haben die Beobachtung gemacht, daß die

amerikanischen und englischen Präparate an Wirksamkeit etwa nach 6 bis 8 Wochen einbüßen, das holländische noch früher. Von uns selbst hergestellte Insulinpräparate aus Pankreas mit anfänglich guter Wirkung verloren ihre Wirksamkeit oft schon nach 14 Tagen. Diese Tatsache ist naturgemäß für die ganze Insulinfrage von außerordentlicher Wichtigkeit, und für die Frage der praktischen Insulintherapie ist Eichungsfrage und Frage der Haltbarkeit des Präparates das Problem, dem man sich in erster Linie zuwenden muß, wenn man einigermaßen konstante Erfolge erreichen will.

Wir lassen nunmehr unsere Protokolle aus einer Reihe von Versuchen folgen, wobei wir bemerken, daß die hier wiedergegebenen Versuche willkürlich aus der Fülle unserer Beobachtungen herausgegriffen worden sind. Zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mittels der Gaskette wurden den Tieren die für eine Messung notwendige Menge Blut aus der Vena jugularis entnommen, während die Zuckerbestimmung mit wenigen Tropfen Blutes aus den Ohrvenen vorgenommen werden konnte.

Die fortlaufende Blutzuckerbestimmung geschah nach der bekannten Methode von *Ivar Bang* (s. *Pincussen*, Mikromethodik, 2. Aufl., 1923), die, von einer Hand ausgeführt, ausreichend genaue Werte bei Durchführung von Doppelbestimmungen gestattet.

*Versuch A.*

24. November 1923. Kaninchen, schwarz.
Injektion: 0,5 ccm Insulin + 0,1 ccm Adrenalin (Hungertier)

| | Blutzucker | | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,121 | Sofort 0,5 Adrenalin. | |
| Intrav. 0,5 ccm Insulin. | | Nach 120 Min. . . | 0,054 |
| Sofort nach 5 Min. . . | 0,122 | | Krämpfe |
| „ 30 „ . . | 0,033 | „ 150 „ . . | 0,038 |
| „ 60 „ . . | 0,028 | „ 180 „ . . | 0,017 |
| „ 90 „ . . | 0,061 | „ 210 „ . . | 0,049 |
| „ 110 „ . . | Krämpfe | „ 280 „ . . | Exitus |

Abb. 1.

*Versuch B.*

1. Dezember 1923. Kaninchen, schwarz, 1,5 kg (Hungertier).
Injektion: 0,5 ccm Insulin.

| | Blutzucker | $p_H$ [1]) | | Blutzucker | $p_H$ [1]) |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . | 0,131 | 8,43 | Nach 60 Min.[3]) . . . | 0,054 | — |
| Sofort n. Injektion . | 0,146 | — | „ 80 „ [3]) . . . | 0,051 | 7,78 |
| Nach 20 Min. . . . | 0,144 | — | „ 100 „ . . . | 0,062 | — |
| „ 40 „ [2]) . . . | 0,049 | — | „ 120 „ [4]) . . . | — | 7,00 |

Abb. 2. Zu Versuch B.

Abb. 3. Zu Versuch C.

*Versuch C.* 30. November 1923. Kaninchen, grau, 2 kg (kein Hungertier).
* Injektion: 0,5 ccm Insulin intravenös.

| | Blutzucker | $p_H$ [1]) | | Blutzucker | $p_H$ [1]) |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . | 0,162 | 8,13 | Nach 80 Min. . . . | 0,087 | — |
| * 0,5 ccm Insulin intrav. | | | „ 100 „ . . . | 0,078 | — |
| Sofort nachher . . . | 0,154 | — | „ 120 „ . . . | 0,070 | 8,03 |
| Nach 20 Min. . . . | 0,167 | — | „ 150 „ . . . | 0,081 | — |
| „ 40 „ . . . | 0,137 | — | „ 180 „ . . . | 0,074 | — |
| „ 60 „ . . . | 0,124 | — | „ 210 „ . . . | 0,066 | — |

Nach 240 Minuten erhält das Tier subkutan 3 ccm Traubenzuckerlösung. Keine Krämpfe während des ganzen Versuchs.

[1]) Diese H-Ionenmessung wurde im Serum bei durchströmendem Wasserstoff in der Birnenelektrode vorgenommen.

[2]) Injektion: 5 ccm sekundäres Phosphat, hebt für 5 Minuten die Krämpfe auf; danach legt sich das Tier wieder unter klonischen Zuckungen. Nunmehr 3 ccm Traubenzucker subkutan. Erholung für 1 Stunde.

[3]) Erneute starke Krämpfe, Blutabnahme, danach 10 ccm sekundäres Phosphat intravenös. Tier richtet sich wieder auf. Erholung nur kurz.

[4]) Bei erneuten Krämpfen Injektion von 10 ccm sekundärer Phosphatlösung in die Vena jugularis. 10 Minuten später Blutentnahme.

*Versuch D.* 27. November 1923. Kaninchen, grau, 2 kg (Hungertier). Injektion: 0,5 ccm Insulin.

Um 8 Uhr 40 Minuten 10 ccm Blut entnommen. $p_H$[1]) = 8,16. Blutzucker vorher = 0,143. 8 Uhr 50 Min. = 0,5 ccm Insulin. $p_H$[1]) nach 3 Std. = 7,86.

| | Blutzucker | | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Blut nach 5 Min. . . . . | 0,189 | Blut nach 90 Min. . . . | 0,081 |
| „ „ 30 „ . . . . | 0,128 | „ „ 120 „ . . . | 0,024 |
| „ „ 60 „ . . . . | 0,069 | „ „ 150 „ . . . | 0,063 |

Ausgeprägte Krämpfe nach 180 Minuten. Das sich unruhig unter Krämpfen umherwerfende Tier beruhigt sich momentan und wird vollständig normal nach intravenöser Injektion von 1 g Traubenzucker.

Bei Eintritt der starken Krämpfe 10 ccm aus der Ohrvene entnommen. $p_H$[1]) = 7,86.

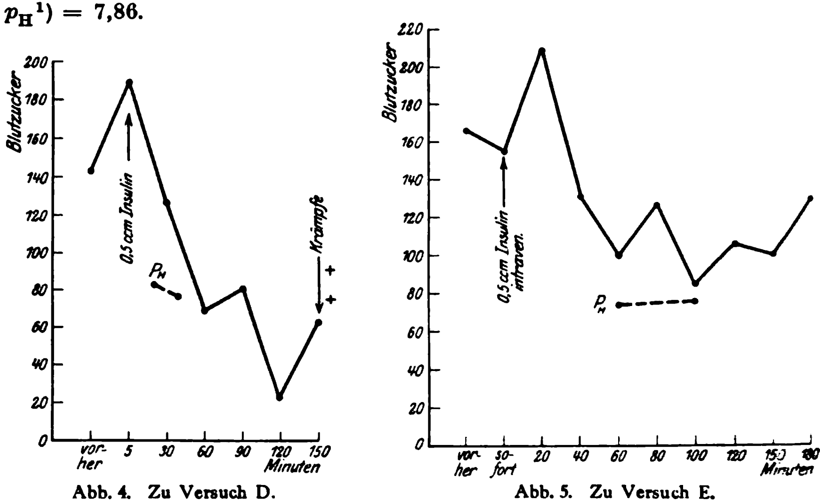



Abb. 4. Zu Versuch D. Abb. 5. Zu Versuch E.

*Versuch E.* 29. November 1923. Kaninchen, schwarz 1,5 kg (kein Hungerversuch). Injektion: 0,5 ccm Insulin.

Es soll versucht werden, die daraufhin einsetzende Säuerung des Blutes mit $NaHCO_3$ bzw. $Na_2HPO_4$ (Puffer) zu beseitigen.

| | Blutzucker | $p_H$[2]) | | Blutzucker | $p_H$[2]) |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . | 0,166 | 7,58 | Nach 80 Min. . . . . | 0,127 | — |
| 0,5 ccm Insulin intrav. | | | „ 100 „ . . . . | 0,086 | — |
| Sofort nachher . . . | 0,155 | — | „ 120 „ . . . . | 0,107 | 7,59 |
| Nach 20 Min. . . . . | 0,209 | — | „ 150 „ . . . . | 0,101 | — |
| „ 40 „ . . . . | 0,131 | — | „ 180 „ . . . . | 0,130 | — |
| „ 60 „ . . . . | 0,100 | — | | | |

Nach 180 Minuten erhält das Tier 3 ccm konzentrierten Traubenzuckers subkutan. Tier bleibt munter.

Während des ganzen Versuchs sind keine Krämpfe aufgetreten.

[1]) Diese H-Ionenmessung wurde im Serum bei durchströmendem Wasserstoff in der Birnenelektrode vorgenommen.

[2]) Diese $p_H$-Werte sind im Vollblut mit der U-Elektrode gemessen.

*Versuch F.*

17. November 1923. Kaninchen, schwarz, 1,5 kg (Hungertier).
* Injektion: 0,5 ccm Insulin + 0,5 ccm Adrenalin.

| | Blutzucker |
|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . . . . . . | 0,073 |
| * Injektion | |
| 10 Min. nachher . . . . . . . . . . | 0,232 |
| 40 " " . . . . . . . . . . | 0,267 |

Da Krämpfe einsetzen, nach 40 Minuten 1 ccm Pilocarpin subkutan. Tier bleibt am Leben.

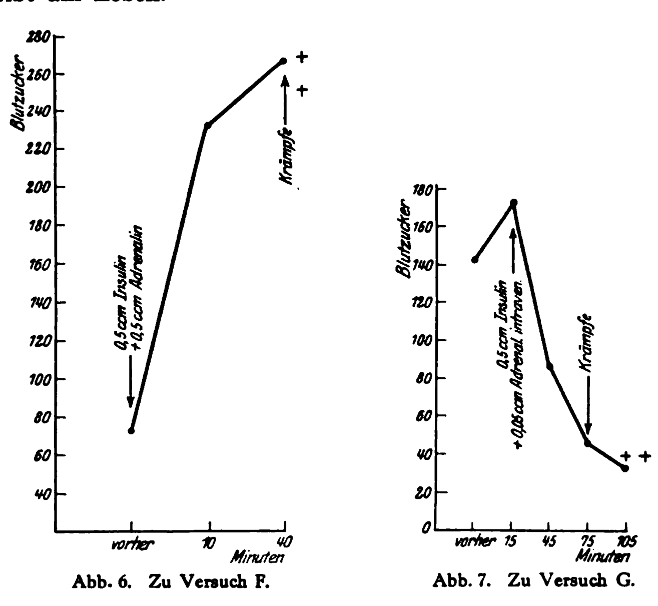



Abb. 6. Zu Versuch F.

Abb. 7. Zu Versuch G.

*Versuch G.*

17. November 1923. Kaninchen, weiß (Hungertier).
* Injektion: 0,5 ccm Insulin + 0,05 ccm Adrenalin.

| | Blutzucker |
|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . . . . . . | 0,142 |
| * Injektion | |
| 15 Min. nachher . . . . . . . . . . | 0,174 |
| 45 " " . . . . . . . . . . | 0,086 |
| 75 " " Krämpfe = | 0,046 |
| 105 " " . . . . . . . . . . | 0,033[1]) |

[1]) Injektion: 1 ccm Traubenzucker intravenös, 2 ccm Traubenzucker subkutan.

*Versuch H.*

17. November 1923. Kaninchen, grau, 2 kg (Hungertier).
* Injektion: 0,5 ccm Insulin + 0,5 ccm Adrenalin intravenös.

| | Blutzucker |
|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . . . . . . | 0,177 |
| * Injektion (Mischspritze) | |
| 5 Min. nachher . . . . . . . . . . | 0,109 |
| Tod nach 10 Min. unter Atemlähmung und Krämpfen. Blutzucker sogl. n. Eintritt d. Todes (Adrenalintod) | 0,136 |

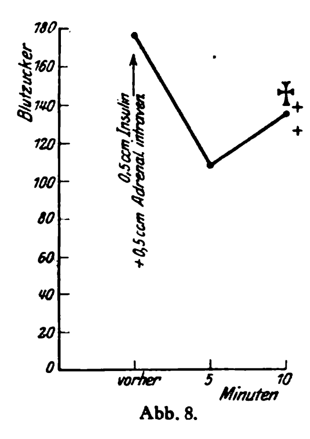



Abb. 8.

Fassen wir das Ergebnis unserer Beobachtungen über die Wirkung des Insulins auf Kaninchen zusammen, wobei wir auf unsere hier beigebrachten Untersuchungen, die, wie gesagt, nur einen kleinen Teil unserer Erfahrungen darstellen, exemplifizieren können, so läßt sich folgendes sagen, was zunächst eine Bestätigung der Torontoerforscher im großen ganzen darstellt.

1. Der hypoglykämische Komplex äußert sich durch Krämpfe, die gewöhnlich in den hinteren Extremitäten beginnen, sobald der Blutzuckerwert die Schwelle von 0,5 unterschritten hat. Die Krämpfe verschwinden für gewöhnlich wieder, um nach einer Pause von 10, 20, 40 und mehr Minuten wieder aufzutreten. Nach den Krämpfen tritt die Phase völliger Atonie auf mit enormer Hyperpnoe. Unter diesen Erscheinungen sterben dann die Tiere.

2. Die Blutzuckerkurve stellt keine gleichmäßig abfallende Kurve dar, sondern sie ist mehrphasig. Gute Beispiele geben dafür die Versuche E (*kein* Hungertier!) und Versuch D (Hungertier) wieder. Jeweiliger Abfall und Anstieg alternieren, wobei der ersten Insulinwirkung für gewöhnlich ein Blutzuckeranstieg und dann nach einer Pause von 20 bis 40 bis 60 Minuten der scharfe Abfall mit wiederholter Zackenbildung folgt. Der tiefste Punkt der hypoglykämischen Kurve liegt in der Zeit von 100 bis 120 Minuten.

3. Man kann den hypoglykämischen Komplex durch intravenöse Dextroselösung sofort unterbrechen, manchmal aber auch durch Adrenalin, doch gelingt letzteres durchaus nicht immer. Da wir dem Adrenalin in seiner Wirkung eine kohlenhydratmobilisierende Wirkung zuschreiben müssen, so ist die Annahme berechtigt, daß nur dann durch Adrenalininjektion die Beseitigung des hypoglykämischen Zu-

standes möglich ist, wenn überhaupt noch Kohlenhydrat beim Tiere mobilisierbar ist.

Man kann die Acidose-Symptome des hypoglykämischen Komplexes durch Injektionen von Sek. Natriumphosphat beseitigen, das infolge seiner nachhaltigeren Wirkung besser wirkt als Natron bicarbonic.

4. Von wesentlicher Bedeutung erscheint uns die Erkenntnis, die wir gewonnen haben, daß es durch gleichzeitige Injektion von Adrenalin und Insulin nicht gelingt, die Wirkung des einen wie anderen Hormons zu neutralisieren. Die Wirkung des Adrenalins ist kurzfristig, die des Insulins langhaltig. (Vgl. hierzu auch die Kurven G, F, H.)

5. Von besonderer Bedeutung erscheint auch der von uns erhobene Befund, *daß das Blut bei der Insulinwirkung saurer wird.* Dieser Befund ist einwandfrei, da er mit der Gaskette erhoben worden ist. Solange das Tier noch nicht im hypoglykämischen Komplex steht, bleibt die H-Ionenkonzentration stabil, wie aus dem Vergleich hervorgeht:

*Versuch E.*

| | | |
|---|---|---|
| $p_H$ vorher | 7,58 | kein hypoglykämischer Komplex. |
| nach 120 Minuten | 7,59 | |

*Versuch D.*

| | | |
|---|---|---|
| $p_H$[1]) vorher | 8,16 | hypoglykämische Erscheinungen. |
| nach 3 Stunden | 7,86 | |

*Versuch C.*

| | | |
|---|---|---|
| $p_H$[1]) vorher | 8,13 | keine hypoglykämischen Erscheinungen. |
| nach 120 Minuten | 8,03 | |

*Versuch B.*

| | | |
|---|---|---|
| $p_H$[1]) vorher | 8,43 | hypoglykämische Erscheinungen. |
| nach 80 Minuten | 7,78 | |
| „ 120 „ | 7,00 | |

Der ganze hypoglykämische Komplex mit seinen Krämpfen und seiner Hyperpnoe ist also mit einer Säuerung des Blutes vergesellschaftet, die sehr stark genannt werden kann. Betonen möchten wir, daß die Säuerung im Blute sich ebenso durch eine Verringerung der Alkalireserve anzeigt. Als Beispiele dafür führen wir zwei Versuche an, die gleichfalls unter gleichzeitiger Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mit Hilfe der Gaskette durchgeführt wurden. Zur Bestimmung der Alkalireserve verwandten wir das Verfahren von *Rohonyi*[2]), das uns gestattet, mit Hilfe von 1 Proz. alkohol. Alizarinrot und n/100 HCl im Serum nach Alkoholfällung die Alkalireserve zu bestimmen.

*Versuch 38.*

Einem Kaninchen, das 24 Stunden gehungert hat, und das ½ ccm Insulin intravenös erhält, *ohne* nachfolgenden hypoglykämischen Komplex,

[1]) Siehe Fußnote 1, S. 123.

[2]) *Rohonyi* Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 51.

wird *sofort*, nach 1 Stunde und nach 3 Stunden, je 10 ccm Blut entnommen. Ein Teil des Blutes wird zur Feststellung der Wasserstoffionenkonzentration bestimmt, ein Teil wird nach *Rohonyi* mit Alizarin als Indikator und n/100 HCl titriert. (1,5 ccm Plasma + 8,5 ccm Alkohol filtriert, davon 7,7 ccm.)

Verbraucht wurden für die Portion I = 0,87 ccm n/100 HCl,
„ II = 0,87 „ n/100 „
„ III = 0,87 „ n/100 „

Die Wasserstoffionenkonzentration im Serum hielt sich stabil bei dem Werte von $p_H$ 8,0.

*Versuch 82.*

Ein Kaninchen, das 3 Tage gehungert hat, erhält ½ ccm Insulin intravenös. Nach 3 Stunden wird es komatös. Das Blut wird in gleicher Weise entnommen und verarbeitet wie in Versuch 38.

Vor Beginn des Versuchs Portion I, und im Koma nach 3 Stunden Portion II.

Es wurden für Portion I = 1,1 ccm n/100 HCl verbraucht,
II = 0,6 „ n/100 „ „

Die Wasserstoffionenkonzentration hält sich für das Blut in der U-Elektrode vor Beginn (Portion I) auf $p_H$ = 7,2, im Koma (Portion II) auf 6,8.

Wir dürfen die im Verlaufe des hypoglykämischen Komas auftretende Hyperpnoe als die Folge der Säuerung des Blutes ansehen und haben nur zu fragen, worauf beruht die Säuerung? Sie vollzieht sich mit solcher Schnelligkeit und hängt gleichzeitig mit der Verminderung des Zuckerspiegels zusammen, daß es nahe liegt, folgende Fragen zu stellen: Beruht die Säuerung auf einer Überproduktion von $CO_2$, was zu einer Verschiebung der Puffer führen würde, oder auf dem Verschwinden von Phosphaten aus dem Blute oder auf dem Auftreten von sogenannten Acidosiskörpern etwa als Folge mangelnder Kohlenhydratverbrennung, was doch nicht gerade wahrscheinlich ist? Die Antwort läßt sich nicht so schwer finden. Tatsächlich kann man nachweisen, daß auch im hypoglykämischen Koma anorganische Phosphorsäure nicht aus dem Blute verschwindet. Es gelang uns beispielsweise in Versuch 82 der Nachweis, daß im Serum die anorganische Phosphorsäure völlig sich gleichbleibt trotz der intensiven Abnahme der Alkalireserve. Daß die Zufuhr von sekundärem Phosphat im hypoglykämischen Koma die Säurewirkung für eine gewisse Zeit aufhebt, ist natürlich *kein* Argument dagegen, da eine Anhäufung von $CO_2$ im Blute mit der dadurch bedingten Verschiebung des Alkalis in den Puffern schon eine Verringerung des sekundären Phosphats zugunsten des primären im Blute bewirkt, da, wie wir noch durch unseren Mitarbeiter *Tsubura* zeigen werden, beim Insulinhunde im hypoglykämischen Komplex eine starke $CO_2$-Abdunstung eintritt, so dürfte wohl die naheliegendste Annahme die sein, daß der ausgesprochene hypoglykämische Komplex mit einer $CO_2$-Übersäuerung einhergeht,

und es bliebe nur die Frage zu eruieren, wieso eine $CO_2$-Überproduktion die Folge der intensiven Insulinwirkung ist. Ohne weiteres wird man dazu gedrängt, die vermehrte $CO_2$-Produktion mit dem Verschwinden des Zuckers in Zusammenhang zu bringen.

Wir weisen hier auf unsere Ergebnisse und die von *Staub, Günther* und *Fröhlich*[1]) hin, die bei einem insulingespritzten Hunde eine Abnahme des anorganischen Phosphors und eine geringe Zunahme der Alkalinität des Blutes fanden, doch läßt sich hier sagen, daß der Hund die Hyperpnoe vermissen ließ, die wir bei hypoglykämischen Kaninchen fanden.

Anschließend an diese bei Kaninchen gemachten Erfahrungen über die Insulinwirkung möchten wir noch über unsere Erfahrungen berichten, die wir an Fröschen, Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Hunden gemacht haben. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß man ebenso wie beim Kaninchen auch bei Meerschweinchen, Ratten und Hunden den hypoglykämischen Komplex zur Auslösung bringen kann, doch hat man den Eindruck, daß z. B. beim Vergleich von Meerschweinchen und Kaninchen oft das Kaninchen leichter reagiert als das Meerschweinchen trotz seines vielmals größeren Gewichts, ja trotz kleinerer Dosis. Je kleiner und jünger das Tier, desto refraktärer ist es gegen das Insulin; das gilt besonders für Frosch, Maus und Ratte. Von Fröschen war überhaupt niemals von uns irgend eine Insulinwirkung im Sinne eines hypoglykämischen Komplexes zu finden, aber auch die Mäuse und Ratten reagierten verhältnismäßig weit schlechter als die Kaninchen. Die hypoglykämischen Erscheinungen beim Meerschweinchen wie bei der Ratte zeigen sich auch weit mehr im Sinne starker Atonien, wobei die Tiere schlaff sind und willkürlich, ohne sich zu regen, in jede beliebige Stellung gebracht werden können als etwa durch Krämpfe, die beim Kaninchen sehr ausgesprochen sind. Trotzdem darf füglich behauptet werden, daß auch bei diesen Tieren das Insulin seine blutzuckererniedrigende Wirkung nicht vermissen läßt.

## II.

Nachdem nun festgestellt worden war, daß die Insulinwirkung als nachhaltige Wirkung für Stunden sich in der schubweis durch Zuckerbildungswellen unterbrochenen hypoglykämischen Senkung ausläuft und dieses Verschwinden des Zuckers einhergeht mit einer Säuerung des Blutes, die, wie späteren Versuchen vorweggenommen werden soll, auf $CO_2$-Überproduktion beruht, galt es für uns, die intermediären Vorgänge zu studieren, die diesen eigenartigen hypoglykämischen Zustand bedingen. Es mußte mit anderen Worten der Zusammenhang zwischen Blut und den Organen hauptsächlich hinsichtlich der Zucker-

[1]) Klin. Wochenschr. 2, Nr. 52, 1923.

bildung wie des Zuckerverbrauchs unter der Einwirkung des Insulins studiert werden, ein Unterfangen, das, wie gleich betont werden soll, nicht unbeträchtliche Schwierigkeiten aufbot, wollte man vor allem die biologischen Vorgänge nicht als Endeffekte bilanzieren, sondern den Vorgang selbst verfolgen. In dem Insulinproblem steckt ja nicht nur ein therapeutisches Problem, sondern das Insulinproblem ist der experimentelle Schlüssel zum Rätsel des Diabetesproblems und zum Rätsel des Kohlenhydratumsatzes, der in der Klinik bisher eigentlich nur unter dem Gesichtspunkte der Respirationsanalyse experimentell überprüft worden ist und deshalb in seinen intermediären Stufen auch ein Rätsel geblieben ist. Wie sehr gerade für die Deutung der Insulinwirkung die Ergebnisse der Respirationsanalyse unzureichende sind, wird jeder zugeben müssen, der einmal die experimentellen Ergebnisse der Respirationsanalysen bei insulingespritzten Tieren durchsieht. Nach vielen Vorversuchen sind wir zur Durchführung einer einheitlichen Methodik gelangt, die uns gestattet, gewissermaßen die vitalen Vorgänge des Tieres, das unter Insulinwirkung gestellt wird, noch über den Tod hin zu verfolgen, um die Richtung des ganzen intermediären, auf den Kohlenhydratumbau sich beziehenden Prozesses zu erkennen. In erster Linie wandten wir unser Interesse der Leber zu, da naturgemäß die Leber das Organ ist, auf das das Insulin im Intermediärprozeß zunächst trifft: Leber und Pankreas stellen ontologisch eine gemeinsame Anlage dar, sind physiologisch aufeinander eingestellt, da die Leber die Verdauungsprodukte, die mit Hilfe der Bauchspeicheldrüse entstanden sind, zu verarbeiten hat, und in der Pathologie zeigt sich z. B. beim Fehlen des Insularapparates durch das Fehlen des Glykogens in der Leber, wie die Störung der funktionellen Einheit Störungen der korrelativen Organfunktion bedingt. Es muß also jede Analyse der Insulinwirkung zunächst von dem Verhalten der Leber ausgehen: *das ist physiologisch.* Es kommt dazu, daß ja die Leber gewissermaßen die Vorratskammer, Speisekammer und Küche des Organismus ist und von hier aus der Organismus nach seinem Bedarf versorgt wird. Erst in zweiter Linie wandten wir uns dem Studium anderer, für den Kohlenhydratumsatz wichtiger Organe unter dem Einflüß des Insulins zu, das ist die Muskulatur, und schließlich auch dem Verhalten der Niere als Prototyp eines Organs, das erwiesenermaßen hinsichtlich des Kohlenhydratumbaues nur die Bedeutung eines exkretorischen Organs im Falle der Hyperglykämie hat[1]).

---

[1]) Über das Verhalten der Niere, das, wie vorweggenommen werden soll, hinsichtlich des Kohlenhydratverbrauchs unter normalen Verhältnissen wie unter Insulin praktisch belanglos ist, wird später zusammen mit Ergebnissen an anderen Organen berichtet.

Um nun aber die Insulinwirkung richtig ausdeuten zu können, war es nötig, das Verhalten der Organe des Normaltieres wie des Hungertieres mit und ohne Insulinwirkung zu prüfen, denn nur so konnte ein Einblick in die tatsächlichen Insulinwirkungen voll gewonnen werden.

## Methodik.

Wir beschreiben hier die Methodik, wie wir sie namentlich in den Versuchen 30 bis 100 zugrunde gelegt haben und wie wir sie allen Nachuntersuchern empfehlen möchten. Das Tier, dessen intermediärer Stoffwechsel hinsichtlich des Kohlenhydratumbaus untersucht werden soll, wird durch Nackenschlag getötet und dann die Organe sofort entnommen; Leber, Niere und Muskulatur müssen ausgeblutet sein. Von der Muskulatur werden am besten aus Vorder- und Hinterläufen sowie Rückenmuskulatur Portionen entnommen, die annähernd gleich sind (z. B. 10 g Rücken-, 10 g Hinterlauf-, 10 g Vorderlaufmuskulatur). Nunmehr werden 10 g der gemischten Muskulatur, 10 g der Leber sofort zur Glykogenbestimmung nach *Pflüger* angesetzt, 10 g Leber werden in einer Reibschale mit Pistill so lange verrieben, bis sie flüssig sind und sich nur wenig Bindegewebselemente noch in der flüssigen Leberpaste finden; das gleiche geschieht mit 10 g Muskulatur (gemischt!), nur daß die Muskulatur sich schlecht verreiben läßt, wenn man nicht etwas gereinigten Seesand hinzusetzt. Das Bindegewebe läßt sich beim Verreiben der Muskulatur als faseriger Rest ohne weiteres erkennen, er darf aber nicht aus dem Muskelbrei etwas herausgenommen werden. Die Verreibung von Leber und Muskel in der Reibschale nimmt gut 7 bis 10 Minuten in Anspruch. Ähnlich verfährt man mit anderen Organen. Die verriebenen Organe, genau vorher abgewogen auf je 10 g, werden nunmehr mit einer Ringerlösung, die 0,8 Proz. NaCl, 0,01 Proz. KCl und 0,01 Proz. $CaCl_2$ und 0,11 Proz. $NaHCO_3$, außerdem 0,1 g Dextrose enthält, in einen etwa 500 ccm haltigen Kolben übergeführt, so daß Ringerlösung + Organ 100 ccm zusammen ausmachen. Die Ringerlösung war vorher auf 37,5$^0$ erhitzt worden, Dextrose und Natron bicarbonicum sind auf der chemischen Wage gewogen. Bezüglich des Dextrosezusatzes sei bemerkt, daß der Zusatz von 100 mg-Proz. der günstigste ist, wenn man z. B. mit Leber arbeitet, und daß wir diesen Zusatz am meisten empfehlen möchten, doch ändert sich nichts wesentlich am Resultate, wenn man etwa kleinere Zusätze (z. B. 50 mg-Proz.) wählt. Stellt man Versuche mit Vogelorganen an, so empfiehlt sich wieder eher ein höherer Zusatz, also 200 mg-Proz., da man damit den physiologischen Verhältnissen näher kommt.

Von diesen Organsuspensionen, die annähernd homogener werden nach gutem Verreiben, werden nun sofort einige Kubikzentimeter zurückbehalten zur Zuckerbestimmung und weitere 10 ccm genau abgemessen mit 40 ccm absoluten Alkohols versetzt, umgeschüttelt und eine Weile verschlossen stehengelassen; sie dienen, wie vorweggenommen werden soll, zur Aciditätsbestimmung und Phosphorsäurebestimmung. Der Rest der Suspension wird nunmehr genau abgemessen, die Menge vermerkt und kommt in dem Kolben in ein Wasserbad von 37$^0$ C, wo durch ein Gebläse Luft in die Suspensionen geblasen wird. Es ist technisch nicht schwierig, bei einem guten Gebläse vier Kolben zu gleicher Zeit unter Luftgebläse in ein weites Wasserbad zu setzen. Die Versuche kann man bereits nach ½ bis

$^3/_4$ Stunden abbrechen. Nunmehr wird, nachdem von der Gebläseröhre mit wenig Wasser und vom Rande des Kolbens etwa eingetrockneter Schaum heruntergespült worden ist, wiederum die Gesamtmenge der Suspension festgestellt. Meist sind nach einer halben Stunde etwa 20 Proz. verdunstet, diese Menge wird auf das alte Volumen mit Wasser aufgefüllt. Jetzt werden sofort einige Kubikzentimeter zur Zuckerbestimmung wieder entnommen und weitere 10 ccm mit 40 ccm Alkohol versetzt und stehengelassen.

Die Zuckerbestimmung geschieht am besten nach *Folin-Wu*[1]), die uns gestattet, auf das Milligramm genau den Zucker zu bestimmen. Da die Suspension zehnfach verdünnt werden muß, muß auch die Vergleichslösung, zu der man die frisch bereitete Lösung wählt, zehnfach verdünnt werden Wichtig ist ein wirklich exakt arbeitendes Kolorimeter; wir benutzten das *Plesch*sche Kolorimeter.

Die mit 40 ccm Alkohol versetzten 10 ccm der Suspension werden filtriert in ein verschließbares Kölbchen. Von dem Filtrat, das sich als absolut eiweißfrei (Sulfosalicylsäureprobe) ergibt, werden 10 ccm genau abgemessen, mit drei Tropfen 1proz. alkohol. Alizarinrotlösung versetzt und mit einer n/100 HCl-Lösung bis zur Entfärbung des Rotes titriert. Titriert man nämlich die Ringerlösung, so kann man den Gehalt an $NaHCO_3$ mit Hilfe der HCl-Lösung in der Mikrobürette und Alizarinlösung austitrieren; 10 ccm des Alkoholfitrats entsprechen genau 2 ccm der Suspension. Vergleicht man nun die Titrationswerte vor und nach dem Versuche, so erhält man gewöhnlich einen Säurezuwachs, der sehr exakt titrimetrisch festzustellen ist. Es sei ein Beispiel genannt: 10 g Leber werden fein verrieben mit Ringerlösung, die 0,11 Proz. $NaHCO_3$ enthält, auf 100 ccm aufgeschwemmt; entnimmt man sofort 10 ccm, versetzt sie mit 40 ccm Alkohol, filtriert, so verbrauchen 10 ccm des Filtrats (= 2 ccm Suspension) 1,9 ccm n/100 HCl bis zur völligen Entfärbung von Rot. Inzwischen wurde die Suspension im Wasserbade bei 37° eine halbe Stunde gehalten unter Luftdurchleitung und nach Abbruch des Versuchs, Auffüllung auf das vorherige Volumen, wieder 10 ccm entnommen, diese mit 40 ccm Alkohol versetzt und vom Filtrat 10 ccm (= 2 ccm der Suspension) titriert. Verbraucht werden 1,3 ccm n/100 HCl. Mithin ist ein Säurezuwachs eingetreten von 1,9 — 1,3 = 0,6 für 2 ccm, das entspricht für 100 ccm Suspension = 30 ccm n/100 HCl. Dieser Säurezuwachs könnte vielleicht Phosphorsäure sein, doch läßt sich durch die Phosphorsäurebestimmung, die wir ebenfalls durchführen, zeigen, daß eine solche Aciditätszunahme nur im geringsten Ausmaße in Frage kommt, so daß die Annahme für Leber und Muskel schon in Anlehnung an bekannte physiologische Erfahrung berechtigt ist, diese Aciditätszunahme beruhe in der Hauptsache auf Milchsäurebildung. Dann ergibt die Rechnung für 100 ccm Suspension, da jeder Kubikzentimeter n/100 HCl = 0,9 mg Milchsäure entspricht, eine Milchsäuremenge von 30 × 0,9 mg = 27 mg; das würde also heißen, daß 10 g Leber nach Luftdurchleitung 27 mg Milchsäure produziert haben. Naturgemäß haben diese Aciditätsbestimmungen nur indirekten Wert; sie wären fehlerhaft in der Ausdeutung, wenn andere Säuren noch in Frage kämen; das kommt aber um so weniger für Leber und

[1]) Genauere Beschreibung siehe in *Mandel-Steudel*, Mikromethoden; *Pincussen*, Mikromethodik oder *Brugsch-Schittenhelm*, Technik klinischer Untersuchungsmethoden **2**, 2. Aufl., 1924.

Muskel hier[1]) in Frage, als sich nämlich zeigen läßt, daß die Milchsäuremengen bei direkter Bestimmung der Milchsäure mit Hilfe der Extraktion im *Lind*schen Extraktionsapparat, Fällung als Zinksalz, Bestimmung als Acetaldehyd nach *Fürth* und *Charnas* Werte ergeben, die unter Berücksichtigung der Phosphorsäure in der gleichen Größenordnung liegen, wie die durch Acidimetrie gewonnenen Werte, ja eigentlich sich vollkommen decken. Unsere ursprüngliche Absicht, die Milchsäurebestimmung nur direkt durchzuführen, scheiterte an der Schwierigkeit der direkten Milchsäurebestimmung, die für mikromethodische Versuche wegen der Umständlichkeit nicht brauchbar ist, zumal sie nicht zum Nachweis, ob sich die Milchsäurewerte um einige Milligramm vermehrt haben, brauchbar ist, und darauf kommt es ja an. Die acidimetrische Methode ist dagegen außerordentlich einfach und andererseits, wie Kontrollen ergeben, absolut in den Resultaten sicher. Zum Belege der guten Übereinstimmung von Acidimetrie und direkter Milchsäurebestimmung führen wir jetzt eine Anzahl von Beobachtungen an. Wir betonen nur noch, daß zur Milchsäurebestimmung 50 ccm der Suspension (= 5 g des Organs) von uns verwandt wurden, die sofort nach Beendigung des Versuchs nach *Schenk* enteiweißt wurden und alsdann der weiteren Extraktion nach Befreiung des Filtrats von Hg in vorgeschriebener Weise der Extraktion zugeführt wurden.

**Beispiele:**

*Versuch 81.* 10 g Kaninchenleber werden in feiner Emulsion zu 100 ccm mit Ringerlösung suspendiert. 10 g Leber produzieren nach halbstündiger Luftdurchleitung acidimetrisch Säure auf Milchsäure berechnet 13 mg; es verschwinden 3 mg $H_3PO_4$.

Milchsäure in 10 g Leber direkt bestimmt 18 mg.

*Versuch 83.* a) 10 g Kaninchenleber werden in feiner Emulsion mit 100 Ringerlösung zu 100 suspendiert.

10 g Leber produzieren nach halbstündiger Luftdurchleitung acidimetrisch auf Milchsäure berechnet 21,6 mg.

Dabei werden 5,6 mg $H_3PO_4$ frei.

Die direkte Milchsäurebestimmung ergibt für 10 g Leber = 11,8 mg Milchsäure.

b) 10 g Kaninchenmuskel werden in feiner Emulsion mit 100 Ringer zu 100 suspendiert.

10 g Muskel produzieren nach halbstündiger Luftdurchleitung acidimetrisch auf Milchsäure berechnet 9,3 mg.

Es werden 0,5 mg $H_3PO_4$ frei.

Die direkte Milchsäurebestimmung ergibt für 10 g Muskel = 12,6 mg.

*Versuch 84.* a) 10 g Kaninchenleber werden in feiner Emulsion mit Ringerlösung zu 100 suspendiert.

10 g Kaninchenleber produzieren acidimetrisch auf Milchsäure berechnet 16,2 mg.

Dabei werden 2,5 mg $H_3PO_4$ frei.

Die direkte Milchsäurebestimmung ergibt für 10 g Leber 11 mg Milchsäure.

---

[1]) Bei diabetischen Tieren liegen die Verhältnisse anders, wie wir in unserer nächsten Mitteilung zeigen werden.

b) 10 g Kaninchenmuskulatur werden in feiner Emulsion mit Ringerlösung zu 100 suspendiert.

10 g Muskulatur produzieren acidimetrisch auf Milchsäure berechnet 13,3 mg.

Dabei werden 0,3 mg $H_3PO_4$ frei.

Die direkte Milchsäurebestimmung ergibt für 10 g Muskel = 2 mg Milchsäure.

Wo also $H_3PO_4$ frei wird, ist dieser Wert für das Ergebnis der Acidimetrie in dem Sinne zu verwerten, daß der auf Milchsäure berechnete acidimetrische Wert zu hoch ist, und zwar durchschnittlich für je 1 mg $H_3PO_4$ um 2 mg Milchsäure; umgekehrt, wo $H_3PO_4$ verschwindet, ist der acidimetrisch berechnete Milchsäurewert zu niedrig, und zwar wiederum für 1 mg $H_3PO_4$ um 2 mg Milchsäure. *Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der $H_3PO_4$-Bestimmung ist also die Acidimetrie für unsere Versuche durchaus als sicher anzuerkennen.*

Zur Bestimmung der anorganischen $H_3PO_4$ bedienen wir uns des als zuverlässig befundenen Verfahrens von *Embden*[1]) (Fällung der $H_3PO_4$ als Molybdän-Strychninverbindung). Das Verfahren gestaltet sich insofern noch sehr einfach für uns, als wir es in 25 ccm des alkoholischen Filtrats, das zur Acidimetrie verwandt wurde, zur Anwendung bringen konnten. Entsprechend der *Embden*schen Vorschrift wurde das alkoholische Filtrat (der Alkohol stört nicht!) auf 60 ccm mit $H_2O$ aufgefüllt, mit 20 ccm des Reagens versetzt, nach halbstündigem Stehen nach der Originalvorschrift durch einen Goochtiegel filtriert und gewogen.

## Eigene Versuche.

Die erste Frage, die wir uns stellten, war die: *Wie verhält sich eine Suspension von lebensfrischer Leber in Ringerlösung hinsichtlich etwaiger Glucosebildung, wenn man diese Suspension bei Bluttemperatur* (37° C) *sich selbst überläßt?*

Versuche an Fröschen (normale Winterfrösche, Hunger).

| Nr. | Verhältnis von Leber in g zur Ringerlösung ccm | Glucosekonzentration in Proz. d. Ringerlösung mg | Glucosezuwachs nach 1 Stunde pro g Leber mg | Säurezuwachs, berechnet auf Milchsäure pro g Leber mg |
|---|---|---|---|---|
| 2 | 1 : 25 | 50 | 5,5 | 0,36 |
| 3 | 1 : 25 | 100 | 9,5 | 0,71 |
| 7 | 1 : 25 | 100 | 2,5 | 0,8 |
| 1 | 1 : 25 | 50 | 3,5 | ? |
| 5 | 1 : 25 | 100 | 4,2 | 0,72 |
| 8 | 1 : 25 | 100 | 3,0 | 0,75 |
| | | Durchschnitt . . | 4,7 | 0,67 |

[1]) *Embden*, Handbuch d. biol. Arbeitsmeth., Abt. I, Teil 3, Heft 5, 1921.

Versuche an insulingespritzten Fröschen (Winterfrösche, Hunger).
Dosis = 5 Einheiten. Dauer der Einwirkung 2 Stunden.

| Nr. | Verhältnis von Leber in g zur Ringerlösung in ccm | Glucosekonzentration in Proz. d. Ringerlösung mg | Glucosezuwachs nach 1 Stunde pro g Leber mg | Säurezuwachs, berechnet auf Milchsäure pro g Leber mg |
|---|---|---|---|---|
| 9 | 1 : 25 | 100 | 1,8 | 0,3 |
| 6 | 1 : 25 | 100 | 2,0 | 0,5 |
| 6b | 1 : 25 | 100 | 2,5 | 0,4 |
| | | Durchschnitt . . | 2,1 | 0,4 |

Nachdem diese orientierenden Versuche am Frosche zunächst ergeben hatten, daß die lebensfrische Leberemulsion in Ringer beim Frosche eine geringere Glucose- und Milchsäureproduktion nach einstündigem Stehen bei insulingespritzten Tieren hervorruft, sind wir zu Versuchen an Mäusen, Ratten und Meerschweinchen übergegangen. Da die geringen Lebergewichte nur Mengen von 1 g (bei Mäusen eventuell noch weniger) zu verarbeiten gestatteten, wählen wir hier in dieser Darstellung die Versuchsergebnisse an Meerschweinchen, bei denen die Größe der Leber es gestattete, größere Lebermengen zu verarbeiten. Auch hier wurde die in Ringer suspendierte Leberemulsion 1 Stunde im Thermostaten sich selbst überlassen.

Normal genährte Meerschweinchen.

| Nr. | Verhältnis von Leber in g zur Ringerlösung in ccm | Glucosekonzentration in Proz. der Ringerlösung mg | Glucosezuwachs nach 1 Stunde pro 10 g Leber mg | Milchsäurezuwachs nach 1 Stunde pro 10 g Leber mg | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 10a | 3 : 25 | 0 | 34,0 | 6,0 | |
| 12a | 3 : 25 | 0 | 45,0 | 5,0 | |
| 12b | 3 : 25 | 0 | 40,0 | 2,0 | |
| 14 | — | 10 | 48,0 | 4,0 | |
| 15 | 3 : 25 | 10 | 45,0 | 3,0 | |
| 41 | 3 : 25 | 10 | 75,0 | 5,0 | |
| 40 | 3 : 25 | 10 | 120,0 | 3,0 | |
| 67 | 9 : 75 | 30 | 220,0 | 13,0 | |
| | | Durchschnitt . . | 78,0 | 5,0 | |
| | Hungermeerschweinchen (nach 24stündigem Hungern). | | | | |
| 43 | 3 : 25 | 10 | 25,0 | 2,0 | 2 × 24 Std. Hunger |
| 44 | 3 : 25 | 10 | 130,0 | 3,0 | |
| 45 | 3 : 25 | 10 | 143,0 | 3,0 | |
| 47 | 3 : 25 | 10 | 35,0 | 4,0 | 2 × 24 Std. Hunger |
| 69 | 10 : 75 | 30 | 20,0 | 0,0 | |
| | | Durchschnitt . . | 71,0 | 2,4 | |

Vergleicht man die Zuckerbildung der sich selbst überlassenen Leberemulsion in Ringer bei Normaltieren und Hungertieren, so zeigt sich deutlich im Hunger die Tendenz zur Verminderung der Glucose bzw. Milchsäurewerte, wobei der zweimal 24stündige Hunger die Werte auffallend niedertreibt.

Insulinversuche an Hungermeerschweinchen.
(Die Tiere wurden nach 24stündigem Hunger gespritzt und verschiedene Zeit nach der Injektion getötet. 1 ccm des Insulins = 20 Einheiten.)

| Nr. | Verhältnis von Leber in g zur Ringerlösung in ccm | Glucosekonzentration in Proz. der Ringerlösung mg | Glucosezuwachs nach 1 Stunde Stehen im Brutschrank pro 10 g Leber mg | Milchsäurezuwachs nach 1 Stunde pro 10 g Leber mg | Insulinmenge ccm | Zeit des Todes n. d. Injektion Std. | Hypoglykämischer Komplex? |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 18 | 3 : 25 | 10 | 200 | 6 | 1 | $1^1/_4$ | nein |
| 19 | 6 : 25 | 10 | 100 | 0 | 1 | $1^1/_2$ | „ |
| 25 | 6 : 25 | 10 | 65 | 3 | $^1/_2$ | $^3/_4$ | „ |
| 39 | 3 : 25 | 10 | 20 | 2 | $^1/_2$ | $1^1/_2$ | „ |
| 48a | 3 : 25 | 10 | 100 | 3 | $^1/_2$ | $1^1/_2$ | „ |
| 70* | 3 : 25 | 30 | 250 | 10 | 1 | 2 | „ |
| | | Durchschnitt . | 122 | 4 | | | |
| 37 | 3 : 25 | 10 | 20 | 2 | $^1/_2$ | $1^3/_4$ | ja, Krämpfe |
| 42 | 3 : 25 | 10 | 20 | 3 | 1 | 2 | „ „ |
| 49 | 3 : 25 | 10 | 18 | 0 | 1 | $1^1/_2$ | „ „ |
| | | Durchschnitt . | 19 | 2 | | | |

* Meerschweinchen trächtig!

Vergleicht man die Insulinversuche mit den Versuchen am Normaltiere bzw. Hungertiere, so läßt sich folgendes ablesen: die Glucoseproduktion ist beim Hungertiere unter Insulin nicht vermindert, ja sogar erhöht, solange noch kein hypoglykämischer Komplex (Krämpfe, Atonie) vorhanden ist; die Milchsäurebildung ist nicht wesentlich geändert. Sobald aber ein hypoglykämischer Komplex vorliegt, sind Glucosebildung und Milchsäurebildung auffällig vermindert. Worauf beruhen diese Erscheinungen? Man muß sich die Herkunft der Glucose in diesen Versuchen klarmachen. Die Glucose stammt, wie wir uns sagen können, freiwerdend durch einen diastatischen Prozeß, aus dem Glykogen der Leber, die Milchsäure aus der Glucose. Es galt also zunächst zu entscheiden:

1. Wird durch Insulin der diastatische Leberprozeß beeinflußt in dem Sinne einer antidiastatischen Einwirkung?

2. Falls nicht, wie verhalten sich die Glykogenwerte bei Normaltieren, Hungertieren, insulingespritzten Tieren außerhalb des hypoglykämischen Komplexes und im hypoglykämischen Komplex.

**Leberdiastaseversuche.**

*Zu 1.* Zur Durchführung dieser Versuche wurden Froschlebern fein zerrieben und mit physiologischer Kochsalzlösung ($p_H = 7$) aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmungen reagierten negativ mit *Lugol*scher Lösung; dann wurden die Versuche wiederholt mit einer 1proz. Stärkelösung und nach einstündigem Aufenthalt im Brutschranke entsprechend der *Wohlgemuth*schen Versuchsanordnung der Titer des Stärkeabbaus mit Hilfe *Lugol*scher Lösung bestimmt.

Ergebnisse, ausgedrückt in Einheiten:

| Nr. | Versuch | | Wert |
|---|---|---|---|
| 1a | Hungerfrosch: Leberpreßsaft + Blutserum 1:1 . . . . . . . . . . | Diastase | = 0 |
| „ 1b | Leberpreßsaft + n/10 Phosphorsäure ($p_H$ 7,5) . . . | „ | = 0 |
| „ 2 | Pankreasloser Frosch, Leberemulsion 1:10 . . . . . . . . . . . . . | „ | = 10 (1/2 Std.) |
| „ 3 | „ „ „ 1:10 . . . . . . . . . . . . . | „ | = 10 (1/2 „ ) |
| „ 4 | Normaler Frosch, Leberemulsion 1:10 . . . . . . . . . . . . . . | „ | = 5 (1/2 „ ) |
| „ 5 | Pankreasloser Frosch, Leberemulsion 1:10 . . . . . . . . . . . . | „ | = 5 (1/2 „ ) |
| „ 6 | Normaler Frosch, Leberemulsion 1:10 . . . . . . . . . . . . . . | „ | = 20 (1 „ ) |
| „ 7 | „ „ 1/2 ccm Insulin zur Leberemulsion 1:10 . . . . . | „ | = 20 (1 „ ) |
| „ 8 | Pankreasloser Frosch, 1/2 ccm Insulin zur Leberemulsion 1:10 . . . | „ | = 20 (1 „ ) |
| „ 9 | Normaler Frosch, Leberemulsion 1:10 . . . . . . . . . . . . . . | „ | = 10 (1/2 „ ) |
| „ 10 | „ „ 1/2 ccm Insulin zur Leberemulsion 1:10 . . . . . | „ | = 10 (1/2 „ ) |
| „ 11 | Pankreasloser Frosch + 1/2 ccm Insulin zur Leberemulsion 1:10 . . | „ | = 10 (1/2 „ ) |
| „ 12 | Normaler Frosch, nach Injektion v. 1/2 ccm Insulin, Leberemulsion 1:10 | „ | = 5 (1/2 „ ) |

Über diese Versuche hinaus wurden noch etwa 20 Versuche jeweils mit dem Erfolge bei Fröschen angestellt, daß weder die Pankreasexstirpation noch die Insulininjektion beim Frosche den diastatischen Wert der Leber nennenswert ändert. Nunmehr haben wir gleiche Versuche an Mäusen mit Insulininjektion und Adrenalininjektion angestellt mit dem Ergebnis, daß in manchen Fällen die diastatische Kraft unter Insulin bzw. Adrenalin sich um einige Einheiten vergrößert fand, ohne daß es aber erlaubt ist, hieraus einen bündigen Schluß auf eine beschleunigende Wirkung der diastatischen Kraft der Leber unter dem Einfluß des Insulins zu zeigen. Wir geben aus den Versuchen nur einige Ergebnisse wieder:

| Maus | Leberemulsion | Diastase |
|---|---|---|
| Ungespritzt . . . . . . . . . . . | 1 : 10 | 10 Einheiten (1/2 Std.) |
| Mit 1/4 ccm Insulin gespritzt . . . | 1 : 10 | 15 „ (1/2 „ ) |
| „ 1/2 „ Adrenalin gespritzt . . | 1 : 10 | 10 „ (1/2 „ ) |
| „ 1 „ „ „ . . . | 1 : 10 | 15 „ (1/2 „ ) |

Wir können aus der großen Reihe von Diastaseversuchen an Frosch- und Mäuselebern hinsichtlich des Einflusses des Insulins auf die diastatische Kraft der Leber nur den einen Schluß ziehen, *daß das Insulin die Leberdiastase nicht hemmt, vielleicht sogar eher fördert.*

*Zu 2.* Nunmehr war die Frage zu beantworten, ob sich die Glykogenwerte der Normaltiere, Hungertiere und insulingespritzten Tiere nennenswert unterscheiden, so daß man etwa berechtigt wäre, die Unterschiede in bezug auf die Glucoseproduktion der Leberemulsion auf die Glykogenunterschiede zu beziehen. Zur Beantwortung der Frage haben wir eine größere Reihe von Lebern der Meerschweinchen (und Kaninchen) auf ihren Glykogengehalt untersucht; wir stellen diese Werte, geordnet nach der Zusammengehörigkeit der Versuche, hier zusammen: (M = Meerschweinchen, K = Kaninchen).

Glykogengehalt in 10 g Leber, berechnet in Milligramm Dextrose.

| Nr. | *A* Normaltiere | | Nr. | *B* Hungertiere (24 Std.) | | Nr. | *C* Hunger (24 Std.) + Insulin | | Hypoglykämischer Komplex |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 86 | K . . . . | 110 | 55 | M . . . . | 110 | 81 | K . . . . | 69 | — |
| 76 | K . . . . | 92 | 68 | M . . . . | 40 | 52 | M . . . . | < 20 | + |
| 50 | M . . . . | 300 | | | | 54 | M . . . . | < 20 | + |
| 66 | M . . . . | 90 | | | | 57 | M . . . . | < 20 | + |
| | | | | | | 60 | M . . . . | 220 | — |

*D.* Hungertiere, denen Dextrose intraperitoneal zugleich mit Insulin gespritzt worden ist.

*Versuch 62.* M., 300 mg (Injektion von 1 ccm Insulin + 2 g Dextrose, getötet nach 1 Stunde).

*Versuch 58.* M., 100 mg (Injektion von ½ ccm Insulin + 1 g Dextrose, getötet nach 1 Stunde.)

*Versuch 54a.* M., 220 mg (Injektion von 1 ccm Insulin + 4 g Dextrose, getötet nach 2 Stunden).

*E.* Normaltier (M), dem Insulin (½ ccm) gespritzt wird, *ohne* Wirkung, 2 Stunden später getötet = 220 mg).

Aus diesen Versuchen geht hervor: 1. die höchsten Werte an Glykogen zeigen Normaltiere, ebenso aber auch Hungertiere, die mit der Insulininjektion ein Zuckerdepot bekommen haben und die nicht nach 2 Stunden getötet worden sind; *bei den Hungertieren, bei denen die Insulinwirkung einen hypoglykämischen Komplex ausgelöst hat, ist der Glykogengehalt der Leber auffällig niedrig geworden.*

Die Resultate hinsichtlich des Glykogengehaltes decken sich also mit den Resultaten der Glucoseproduktion bei der Leber-Ringer-emulsion insofern, als man sagen darf, daß unter Insulin im hypoglykämischen Komplex die geringe Zuckerproduktion der Leber wohl mit den auffällig niedrigen Glykogenwerten in Zusammenhang stehen muß. Warum zeigen aber die Hungerlebern unter Insulin einen relativ hohen Glykogenwert, sofern man mit dem Insulinzucker injiziert, auch wenn diese Mengen nur relativ gering sind?

Um hierin eine Lösung zu finden, mußte nunmehr der Mechanismus der Zucker- bzw. Milchsäureproduktion eingehend untersucht werden, weshalb zunächst eine Änderung der Methodik vorgenommen wurde. *Es wurde nunmehr unmittelbar nach Verreiben der emulsionierten Leber mit Ringer der Zuckerwert untersucht und dann nach einstündigem Stehen die Aufschwemmung im Thermostaten.*

**Beispiele:**

*Versuch 42.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres.

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet, 25 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . 25 „ „ + 2 mg Milchsäure gebildet
Zuwachs 2 mg Milchsäure

*Versuch 44.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres.

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet, 120 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . 130 „ „ + 3 mg Milchsäure gebildet

Zuwachs 10 mg Glucose + 3 mg Milchsäure

*Versuch 45.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres.

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet, 130 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . 143 „ „ + 3 mg Milchsäure gebildet

Zuwachs 13 mg Glucose + 3 mg Milchsäure

*Versuch 47.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres.

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet, 28 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . . 35 „ „ + 4 mg Milchsäure gebildet

Zuwachs 7 mg Glucose + 4 mg Milchsäure

Berücksichtigt man nur die Vorgänge nach der Emulsionierung, *so bildet die Leber-Ringeremulsion im Verlaufe einer Stunde, ohne $O_2$-Zufuhr, kleinere Mengen Glucose und Milchsäure bei einem 24-Stunden-Hungertier, die sich pro Gramm Leber auf höchstens 1 bis 2 mg Glucose + Milchsäure erstrecken.*

Wie liegen die Verhältnisse bei insulingespritzten Hungertieren unter gleichen Verhältnissen der Versuchsanordnung?

*Versuch 37.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres, das 1¾ Stunden vor seinem Tode ½ ccm Insulin bekommen hat. (Hypoglykämischer Komplex.)

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet . . . 28 mg Glucose,
nach ½ Std. . . . . . . . . . . . . . . . . . . 26 „ „ 0,0 mg Milchsäure
„ 1 „ . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 20 „ „ 2,0 „ „ gebildet

Defizit 8 mg Glucose, Zuwachs 2,0 mg Milchsäure

*Versuch 42.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres, das 2 Stunden vor seinem Tode 1 ccm Insulin bekommen hat. (Hypoglykämischer Komplex.)

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet . . . 25 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . . . . . 20 „ „ 3 mg Milchsäure gebildet

Defizit 5 mg Glucose, Zuwachs 3 mg Milchsäure

Vergleicht man die beiden Insulinversuche mit dem hypoglykämischen Komplex mit den Versuchen an den Hungertieren, so tritt ein bemerkenswerter Unterschied zutage: *dort* Zuwachs an Glucose + Milchsäure, während beim Insulintier im hypoglykämischen Komplex ein Defizit an Glucose mit geringem Zuwachs an Milchsäure sich einstellt. Wie steht das insulingespritzte Meerschweinchen ohne hypoglykämischen Komplex?

Als Beleg führen wir hier einen Versuch an:

*Versuch 39.* Meerschweinchenleber eines 24-Stunden-Hungertieres, das ½ ccm Insulin bekommen hat; getötet 1½ Stunden nach der Injektion; kein hypoglykämischer Komplex.

3 g Leber : 25 Ringerlösung mit . . . . . 10 mg-Proz. Glucose,
sofort werden, für 10 g Leber berechnet, 20 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . . . 20 „ „ + 2 mg Milchsäure gebildet

Zuwachs ± 0 mg Glucose + 2 mg Milchsäure

Dieser Versuch steht also in der Mitte zwischen den reinen Hungerversuchen und den Insulinversuchen mit ausgesprochenem hypoglykämischen Komplex.

*Nunmehr änderten wir unsere Versuchstechnik.* Ausgehend von der Ansicht, daß die Bildung von Glucose und Milchsäure ein anoxybiotischer Spaltungsprozeß sei, daß dagegen das Verschwinden der Dextrose ohne entsprechende Milchsäurebildung ein oxybiotischer Vorgang sei, stellten wir die Versuche statt einfacher Thermostatversuche mit Luftdurchleitung an. Diese Luftdurchleitung muß an sich schon den Vorteil bieten, daß die Vitalität der Gewebe sich länger in der $O_2$-durchperlten Ringerlösung erhält — die Ausfälle der Versuche müßten also bessere werden—, sodann stand vor allem zu erwarten, daß sich die oxybiotischen Vorgänge in viel größerer Schärfe und Deutlichkeit zeigen würden.

Der *Versuch 37a*, der eine Ergänzung zu dem Versuch darstellt, bestätigt sofort unsere Erwartung (vgl. Versuch 37, oben).

Die Leberemulsion (3 : 25 Ringer mit 10 mg-Proz. Glucose) wird im Wasserbade mit Luft durchblasen (gleiches Volumen!).

sofort werden, für 10 g Leber berechnet . . 28 mg Glucose,
nach 1 Std. . . . . . . . . . . . . . . . . . . 10 „ „ + 2 mg Milchsäure gebildet
Defizit 18 mg Glucose + Zuwachs 2 mg Milchsäure

*Das Verschwinden der Glucose ohne entsprechende Milchsäurebildung bei den Insulinhungertieren im hypoglykämischen Komplex zeigte mit aller Klarheit, daß bei der ausgesprochenen Insulinwirkung ein oxybiotischer Prozeß die Hauptrolle spielt, dessen Tendenz zu erkennen galt.* Das war aber nur möglich unter gleichzeitiger Einbeziehung der anorganischen $P_2O_5$ in den Kreis der Beobachtung.

*Versuch 71.* Normalmeerschweinchen, voll genährt. 15 g Leber zu 125 ccm Ringerlösung mit 10 mg-Proz. Glucose suspendiert. Berechnung des Versuchs auf 10 g Leber. Luftdurchleitung durch die Emulsion im Wasserbade bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Säure als Milchsäure berechnet mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 97 | — | 13 |
| Nach 1/4 Stunde . . . . | 99 | 8 | 16 (?) |
| „ 1/2 „ . . . . | 95 | 10 | 14 |
| „ 1 „ . . . . | 88 | 12,2 | 14 |
| Differenz . . . | —9 | + 12,2 | + 1 |

Einem Verbrauch von 9 mg Glucose steht bei einer Normalleber eine Bildung einer gleichen Menge Milchsäure gegenüber. Der kleine Zuwachs von freier Phosphorsäure läßt an die Möglichkeit denken, daß hier eine Zuckerbildung aus Hexosephosphorsäure stattgefunden hat. Trotz Luftdurchleitung trägt der Übergang von Glucose in Milchsäure lediglich den Charakter des anoxybiotischen Prozesses.

*Als Gegenstück* ein Versuch wiederum im Thermostaten *ohne* Luftdurchleitung.

*Versuch 74.* Normalmeerschweinchen, voll genährt, 15 g Leber zu 125 ccm Ringerlösung mit 10 mg-Proz. Glucose suspendiert. Berechnung des Versuchs auf 10 g Leber. 1 Stunde Thermostat.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . | 160 | — | 18 |
| Nach 1 Stunde . . . . . | 167 | 7 | 18 |
| Differenz . . . | + 7 | + 7 | ± 0 |

*Mangelhafte Durchlüftung befördert den diastatischen Prozeß, Durchlüftung bewirkt den glykolytischen Prozeß.* Für diese Ansicht mögen auch die folgenden Versuche sprechen.

*Versuch 83.* Normalkaninchen, voll genährt. Leber 10,0 zu 100 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose (die Beschreibung vgl. Methodik). Luftdurchleitung bei 37° C im Wasserbade.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . | 56,4 | — | 10,6 |
| Nach 1/2 Stunde . . . . | 44,0 | 21,6 | 15,6 |
| Differenz . . . | — 12,4 | + 21,6 | + 5,0 |

Die direkte Milchsäurebestimmung ergibt 11,8 mg Milchsäure.

Hier zeigt sich eine Glykolyse, wobei der Zuwachs an $H_3PO_4$ darauf hinweist, daß freier Zucker zum Teil wenigstens aus Hexosephosphorsäure entstanden ist[1]). Keine Förderung des diastatischen Prozesses!

*Versuch 84.* Normalkaninchen, voll genährt. Leber 10,0 g zu 100 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C im Wasserbade.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . | 146 | — | 8,3 |
| Nach 1/2 Stunde . . . . | 135 | 16,2 | 10,8 |
| Differenz . . . | — 11 | + 16,2 | + 2,5 |

Einem Defizit von 11 mg Glucose steht ein gleichnamiger Säurezuwachs, der auf Milchsäure + Phosphorsäure zu beziehen ist, gegenüber. Auch hier wieder nur anoxybiotische Glykolyse, weiter weist auch hier der Zuwachs an Phosphorsäure darauf hin, daß freier Zucker aus Hexosephosphorsäure entstanden ist[1]).

[1]) Da die Hexosephosphorsäure auch reduziert, ist naturgemäß der Zuwachs an Glucose aus der Hexosephosphorsäure mit unserer Methodik nicht erfaßt worden. Hierüber wird in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

Nunmehr lassen wir eine Reihe von Hungerversuchen an Meerschweinchen und Kaninchen folgen.

*Versuch 73.* Hungermeerschweinchen, 24 Stunden Hunger. 15 g Leber zu 125 Ringerlösung mit 30 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C. Berechnung der Versuche auf 10 g Leber.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 80 | — | 16,0 |
| Nach 1/4 Stunde . . . . | 75 | + 4 | 17,3 |
| „ 1/2 „ . . . . | 69 | + 14 | 17,5 |
| Differenz . . . | — 11 | + 14 | + 1,5 |

Das Ergebnis ist das gleiche wie in den Versuchen 71, 83 und 84! Das gleiche Ergebnis hat auch Versuch 76 und 77.

*Versuch 76.* Hungermeerschweinchen (24 Stunden Hunger). 5 g Leber zu 50 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C. (Berechnung auf 10 g Leber.)

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg |
|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . . . . . | 53,8 | — |
| Nach 1/2 Stunde . . . . . . . . | 34,0 | 18,0 |
| Differenz . . . . | — 19,8 | + 18,0 |

*Versuch 77.* Hungermeerschweinchen (24 Stunden Hunger). 5 g Leber + 50 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung (Berechnung auf 10 g Leber). Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 69 | — | 18 |
| Nach 1/2 Stunde . . . . | 65 | 4 | 18 |
| Differenz . . . | — 5 | + 4 | ± 0 |

Der *gleiche* Versuch im Thermostaten durchgeführt.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 70 | — | 16 |
| Nach 1 Stunde . . . . . | 90 | 8 | 16 |
| Differenz . . . | + 20 | + 8 | ± 0 |

*Bei normal genährten Tieren sowie bei Hungertieren (24 Stunden) tritt im Luftdurchleitungsversuch Glykolyse von Zucker in Milchsäure, teilweise auch Zuckerbildung aus Hexosephosphorsäure ein. Bei fehlender Luftdurchleitung bildet sich Glucose im Überschuß neben Milchsäure.*

*Anders verlaufen die Versuche an insulingespritzten Tieren im hypoglykämischen Komplex, in dem sie getötet wurden.*

*Versuch 72.* Hungermeerschweinchen; erhält 2 ccm Insulin; nach $2^1/_4$ Stunden Krämpfe. 15 g Leber zu 125 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C im Wasserbade. Berechnung auf 10 g Leber.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 40 | 0 | 21,0 |
| Nach $^1/_4$ Stunde . . . . | 32 | 0 | 19,0 |
| „ 25 Minuten . . . . | 22 | 2,0 | 14,0 |
| „ 1 Stunde . . . . . | 10 | 2,0 | 8,0 |
| Differenz . . . | — 30 | + 2,0 | — 13,0 |

Das Ergebnis des Versuchs steht in einem Gegensatz zu den vorherigen. Dem Verschwinden von 30 mg Glucose steht kein entsprechender Säurezuwachs gegenüber, dafür sind allerdings 13 mg $H_3PO_4$ verschwunden, was auf eine organische Zuckerphosphorsäurebindung hinweist. Durch das Verschwinden von Phosphorsäure kann hier acidimetrisch sehr gut ein Teil anwesender Milchsäure verdeckt sein, immerhin ist der bemerkenswerteste Befund der, daß ein Aufbau von Hexosephosphorsäure erfolgt sein muß.

Noch einwandsfreier erscheint in der Deutung der Versuch 78.

*Versuch 78.* Kaninchen, das 24 Stunden gehungert hat, erhält 1 ccm Insulin. Nach 3 Stunden (Beginn der Krämpfe) getötet. 10 g Leber zu 100 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 110 | — | 15,7 |
| Nach $^3/_4$ Stunden . . | 60 | 10,5 | 9,0 |
| Differenz . . | — 50 | + 10,5 | — 6,7 |

Hier zeigt sich einwandsfrei das starke Defizit an Glucose, dem kein auf Milchsäure zu beziehendes Äquivalent an Säure gegenübersteht. Andererseits ist wieder anorganische Säure verschwunden, *was auf Bildung einer Hexosephosphorsäure* hinweist.

Ein völlig analoges Ergebnis zeigen die nächsten drei Versuche:

*Versuch 79.* Ein fettes Kaninchen hungert 5 Tage; am dritten Tage erhält es 1 ccm Insulin morgens und mittags Dextrose (10 g subkutan), am Tage wiederum 10 g Dextrose subkutan und am Abend des vierten Tages 1 ccm Insulin; am fünften Tage 2 ccm Insulin. Nach 3 Stunden getötet im hypoglykämischen Komplex. 10 g Leber zu 100 Ringer mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugeführten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 147 | — | 19,0 |
| Nach $^3/_4$ Stunden . . | 90 | + 12,0 | 16,0 |
| Differenz . . | — 57 | + 12,0 | — 3,0 |

*Versuch 80.* Hungermeerschweinchen· das 4 Tage gehungert hat, erhält 0,7 ccm Insulin. 1½ Stunden später hypoglykämisch. 10 g Leber zu 100 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 24 | — | 12,0 |
| Nach ½ Stunde . . | —20 | 7 | 10,0 |
| Differenz . . | — 4 | + 7 | —2,0 |

*Versuch 81.* Kaninchen, das 3 Tage hungert, bekommt am zweiten Tage 0,5 ccm Insulin und 10 g Dextrose; am dritten Tage 0,5 ccm Insulin. 2 Stunden später hypoglykämischer Komplex. 10 g Leber zu 100 Ringerlösung mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 190 | — | 20 |
| Nach ½ Stunde . . | 166 | 13 | 16 |
| Differenz . . | —24 | + 13 | —4 |

Versuch 81 bildet allerdings schon einen gewissen Übergang zu den Hungerversuchen 73, 76 und 77, noch mehr die Beobachtung 75, bei der eine Insulineinwirkung in Form eines hypoglykämischen Komplexes nicht zu erzielen war.

*Versuch 75.* Hungermeerschweinchen, 24 Stunden Hunger, erhält 1 ccm Insulin, nach 2 Stunden noch kein hypoglykämischer Komplex. 15 g Leber zu 125 Ringerlösung, die 100 mg-Proz. Glucose enthält. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 0 | — | 16 |
| Nach ¼ Stunde . . | —5 | + 6 | 15 |
| „ ¾ „ . . | —8 | + 7 | 15 |
| Differenz . . | —8 | + 7 | —1 |

Überblickt man nunmehr noch einmal insgesamt sämtliche Versuche, so läßt sich für die Leber hinsichtlich des Kohlenhydratumsatzes für die Norm, den Hunger und Insulin folgendes sagen: Die normale Leber ist glykogenreich und wird im Hunger glykogenärmer; sie ist besonders glykogenarm bei Tieren im hypoglykämischen Komplex. Die Leber gibt nun auf *anoxybiotischem Wege* Zucker ab und Milchsäure.

Eine erstickende Leber (ungenügende Durchlüftung) befördert die diastatische Zuckerbildung, die durchlüftete Leber befördert die Glykolyse, wobei gleichzeitig eine Zuckerbildung aus Lactacidogen (Hexosephosphorsäure) stattfinden kann.

Insulin bewirkt eine Oxybiose, indem Traubenzucker verschwindet, das Defizit aber nicht durch eine entsprechende Milchsäuremenge repräsentiert wird. Da bei dieser Oxybiose anorganische Phosphorsäure gleichzeitig verschwindet, so ist der Schluß erlaubt, daß die Oxybiose der oxydativen Synthese dient, indem zunächst der Zucker über die Milchsäure anoxybiotisch abgebaut und die Milchsäure oxybiotisch über die Hexosephosphorsäure wieder aufgebaut wird. So würde sich die Aufgabe des Insulins für die Leber sehr leicht dahin erklären, daß die Leber durch das Insulin befähigt wird, aus dem mit der Pfortader zugeführten Nahrungsstrome oxydativ den Aufbau des Glykogens zu bewirken, und es würde ohne weiteres verständlich, warum eine pankreasdiabetische Leber kein Glykogen mehr bildet, es fehlt ihr eben die oxydativ-synthetische Kraft, die den Anbau über Milchsäure — Hexosephosphorsäure — Disaccharide — Dextrine bis zum Glykogen bewerkstelligt. Andererseits ist es verständlich, daß ein Tier, das gehungert hat, unter Insulin im Kreisprozeß das Glykogen der Leber durch die Zuckeroxydation einschmilzt und damit an Glykogen verarmt. Immerhin läßt sich nicht leugnen, daß der Insulinkomplex, wie er sich klinisch gestaltet, sich nicht allein von der Leber aus erklären läßt. Das hat uns auch veranlaßt, speziell den Verhältnissen der Muskulatur und der Niere[1]) bei normalen, hungernden und insulinvergifteten Tieren nachzugehen.

### Versuche an der Muskulatur.

*Versuch 78b* (vgl. den Versuch 78 an der Leber). Bei dem insulinvergifteten Tier im hypoglykämischen Stadium wird ein Versuch in gleicher Weise mit einer Aufschwemmung von 10 g Muskeln zu 100 ccm Ringer mit 100 mg-Proz. Glucose gemacht; sofort wurden 69 mg Glucose gebildet und bei Luftdurchleitung bei 37° C nach ¾ Stunden 12 mg wiedergefunden; verschwunden sind mithin 57 mg Glucose.

*Der gleiche Versuch in 79b* (vgl. den Versuch 79 an der Leber). Insulinvergiftetes Hungertier. 10 g Muskulatur zu 100 Ringer mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der vorgesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg |
|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 87 | — |
| Nach ¾ Stunden . . . . . | 20 | 18 |
| Differenz . . | — 67 | + 18 |

*Der gleiche Versuch in 80b* (vgl. den Versuch 80 an der Leber). Insulinvergiftetes Hungertier. 10 g Muskulatur zu 100 Ringer mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

[1]) Über die Niere wird später berichtet werden.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg |
|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . . . . | 20 | — |
| Nach 1/2 Stunde . . . . . | — 60 | 20 |
| Differenz . . | — 80 | + 20 |

*Der gleiche Versuch in 81b* (vgl. den Versuch 81 an der Leber). Insulinvergiftetes Hungertier. 10 g Muskulatur zu 100 Ringer mit 100 mg-Proz. Glucose. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 38 | — | 10,0 |
| Nach 1/2 Stunde . . | — 15 | 15 | 10,0 |
| Differenz . . | — 53 | + 15 | ± 0 |

In diesen vier Versuchen zeigt die Muskulatur einen enormen Zuckerverbrauch, ohne daß diesem Verbrauche ein entsprechendes Milchsäureplus entgegentritt! Die Verhältnisse liegen also ganz identisch wie bei der Leber. Noch schlagender sind aber die Verhältnisse, wenn man sie mit den Auswirkungen einer normalen Muskulatur vergleicht!

*Versuch 83b* (vgl. den Versuch 83 an der Leber) Normaltier! 10 g Muskulatur werden zu 100 mit Ringerlösung versetzt, die 100 mg-Proz. Glucose enthält. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | 0,0 | — | 4,8 |
| Nach 1/2 Stunde . . | — 10,0 | + 9,3 | 5,3 |
| Differenz . . | — 10,0 | + 9,3 | + 0,5 |

*Versuch 84b* (vgl. den Versuch 84 an der Leber). Normaltier! 10 g Muskulatur zu 100 Ringerlösung, die 100 mg-Proz. Glucose enthält. Luftdurchleitung bei 37° C.

| | Glucose (nach Abzug der zugesetzten) mg | Milchsäure (acidimetrisch) mg | $H_3PO_4$ mg |
|---|---|---|---|
| Sofort . . . . . . | 0,0 | — | 3,5 |
| Nach 1/2 Stunde . . | — 15,0 | 13,3 | 3,2 |
| Differenz . . | — 15,0 | + 13,3 | — 0,3 |

Abgesehen davon, daß der Wert des Zuckerdefizits weit kleiner ist als bei den insulinvergifteten Tieren, findet sich in den beiden letzten Versuchen der Normaltiere das Defizit durch die annähernd äquivalente Menge Milchsäure gedeckt. *Wir können deshalb auch für die Muskulatur hinsichtlich der Insulinwirkung sagen, daß hier das Insulin ein*

*mächtiger Erreger eines oxybiotischen Vorgangs ist und so das Verschwinden des Zuckers verständlich macht. Wir befinden uns damit in Übereinstimmung mit Neuberg, Gottschalk und Strauss*[1]*, die als erste auf andere Art den sicheren Beweis für das Auftreten einer Oxydationsstufe aus der Kohlenhydratreihe unter der Wirkung von Insulin geliefert hatten.*

Man darf nun nicht vergessen, daß der künstlich durch Insulin hervorgerufene hypoglykämische Komplex *unphysiologisch* ist, daß normaler- oder pathologischerweise wohl nicht ohne weiteres ein Auswirken des Insulins über die Leber auf die Muskulatur anzunehmen ist, doch ist die Frage wichtig genug, ob es sich bei der Insulinwirkung auf die Muskulatur nur um eine Steigerung eines oxydativen Prozesses handelt, oder ob es sich um eine oxydative Synthese handelt. In dieser Hinsicht geben unsere Untersuchungen einen schönen Beweis für die Tatsache der oxydativen Synthese. Wir haben eine Reihe von Analysen über den Glykogengehalt der Muskulatur bei normalen und insulinvergifteten Tieren gemacht:

| Nr. | | In 10 g Muskulatur sind enthalten Glykogen als mg Dextrose |
|---|---|---|
| 86 | Normaltier | 13 |
| 83 | „ | 8 |
| 81 | Insulintier | 3 |
| 80 | „ | 13 |
| 79 | „ | 17 |
| 78 | „ | 0 |

Vergleicht man aber damit die Zuckerausschüttungswerte der Muskulatur für 10 g bei den insulinvergifteten Tieren

Versuch 78b . . . . . . . . . . 69 mg Glucose
„ 79b . . . . . . . . . . 87 „ „
„ 80b . . . . . . . . . . 20 „ „
„ 81b . . . . . . . . . . 38 „ „

im Gegensatz zu den normalen Werten

Versuch 83b . . . . . . . . . 0,0 mg Glucose
„ 84b . . . . . . . . . 0,0 „ „

so bleibt keine andere Deutung als die, daß unter Insulin ein Aufbau zu Disacchariden bzw. Dextrinen zustande kommt. *Es ist damit auch für die Muskulatur die oxydative Synthese unter dem Einfluß des Insulins in schönster Weise bewiesen.*

Daß die Aufstapelung von Zwischenzuckern (Disacchariden + Dextrine) auch für die Insulinleber Gültigkeit hat, womit der Ring

[1]) *C. Neuberg, A. Gottschalk* u. *H. Strauss,* Deutsche med. Wochenschr. 1923, Nr. 45.

des synthetisch-oxydativen Aufbaues sich schließt, mag noch die letzte kleine Zusammenstellung zeigen.

| Nr. | | Glykogen in 10 g Leber, als Glucose berechnet mg | Ausgeschüttete Kohlenhydrate von 10 g Leber, als Glucose berechnet mg | Differenz mg |
|---|---|---|---|---|
| 81 | Insulinvergiftetes Tier | 69 | 190 | — 100 |
| 79 | " " | 80 | 147 | — 67 |
| 78 | " " | 66 | 110 | — 44 |
| 84 | Normaltier | 220 | 146 | + 54 |
| 83 | " | 40 | 56 | — 16 |
| 76 | Hungertier | 92 | 54 | + 38 |

*Somit dürfte für die Wirkung des Insulins von unserer Seite der vollgültige Beweis erbracht worden sein, daß dieses der Aktivitar eines oxydativ-synthetischen Mechanismus für Leber und Muskulatur ist, der dem Aufbau der Kohlenhydrate dient.*

**Zusammenfassung:**

Um den Mechanismus der Insulinwirkung zu klären, reichen sogenannte Respirationsanalysen nicht aus, sondern es muß der intermediäre Umsatz der Kohlehydrate studiert werden. Zu diesem Zwecke ist eine Methodik ausgearbeitet worden, in der die intermediären Vorgänge an Leber, Muskeln (und anderen Organen) unmittelbar nach dem Tode der Versuchstiere quantitativ untersucht werden können. Die Methode beruht in erster Linie auf Aufschwemmung der fein zerriebenen Organe in zuckerhaltiger Ringerlösung unter Luftdurchleitung. Die Studien sind an normal genährten Tieren, 24-Stunden-Hungertieren (vor allem Meerschweinchen und Kaninchen) und an insulinvergifteten Tieren im hypoglykämischen Komplex angestellt worden. Die Verfolgung der intermediären Vorgänge gestattet, bei Feststellung des Glykogengehaltes der Organe die Bildung von Glucose, das Verschwinden von Glucose mit oder ohne entsprechender Bildung von Milchsäure, Bildung von Hexosephosphorsäure und Zwischenzuckern zum Glykogen hin aufzudecken. Es zeigt sich, daß die absterbende Leber nur Glucose, wenig Milchsäure bildet, daß die normale bzw. 24-Stunden-Hungerleber Glucose in Milchsäure verwandelt (Glykolyse), daß aber bei insulinvergifteten Tieren ein starkes Glucosedefizit auftritt, einhergehend mit der Bildung von Hexosephosphorsäure und Zwischenzuckern. Danach ist die Insulinwirkung die energische Aktivierung eines oxydativ-synthetischen Vorganges, der sich in der experimentellen Insulinvergiftung an Leber und Muskeln auswirkt. Das Insulin ist also nicht einfach ein neutralisierender Antagonist des diastatischen Leberfermentes, auf das, nach angestellten Diastase-

versuchen, das Insulin vielleicht sogar noch einen anregenden Einfluß hat, sondern es ist ein antagonistischer Synergist, es führt unter Verbrauch von Zucker zur Glykogensynthese.

Die experimentelle Insulinwirkung deckt sich quantitativ nicht mit der physiologischen Insulinwirkung, die sich in der Hauptsache an der Leber auswirkt, wo Insulin die Glykogensynthese bewirken muß, deren Verlust zum Diabetes mellitus führt. Die experimentelle Insulinwirkung bewirkt bei Hungertieren mit geringen Glykogenlagern eine nach 1 bis 2 Stunden sich zum hypoglykämischen Komplex steigernde Blutzuckerverarmung dadurch, daß die Organe (Leber und Muskeln) zur oxydativen Synthese aufgepeitscht werden, wobei oxydativ neben dem Aufbau Zucker verschwinden muß. Diese oxydativ-synthetische Einstellung ist nur eine hochgradige Steigerung eines physiologischen Geschehens, das normalerweise durch die Insulinproduktion des Pankreas auf den Kohlehydratstrom der Nahrung in der Leber eingestellt wird. Die Hungerinsulinwirkung, die sich in der Anpeitschung der oxydativen Synthese auswirkt, sucht die Kohlehydrate aus Blut und Säften. Die zerebrale Zuckerarmut löst den Krampfkomplex wie den atonischen Zustand aus. Mit dem Auftreten des hypoglykämisch-zerebralen Komplexes (nicht früher!) kommt es zur Säuerung des Blutes (Messungen mit Hilfe der Gaskette), die vorübergehend durch sekundäres Natriumphosphat behoben werden kann. Die Säuerung beruht wohl auf $CO_2$-Überladung des Blutes, wenigstens konnten in einer Phosphatverarmung des Blutes keine Anhaltspunkte für die Annahme von Phosphorsäureverschiebungen seitens des Blutes in die Gewebe gewonnen werden.

Da die Insulinwirkung in ihrer Kontrastellung zum Diabetes mellitus die Aktivierung eines oxydativ-synthetischen Glykogenprozesses darstellt, dessen Zahlen den Zusammenbruch des Organismus bedeuten, so ergibt sich für das Prinzip des Lebens die eminente Bedeutung der oxydativen Glykogensynthese.

# Über insulinartige Körper. I.

Von

**Theodor Brugsch und Hans Horsters.**

(Aus der II. medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 6. März 1924.)*

Vorausgeschickt sei eine Definition: Wir verstehen unter insulinartigen Körpern einmal solche, die bei der Isolierung aus Organextrakten in ihrem chemischen und physikalischen Verhalten dem Pankreasinsulin außerordentlich ähnlich sind, obwohl ihre Wirkung auf den Blutzuckerspiegel starken Schwankungen unterliegt, andererseits Substanzen, die nach Herkunft und chemischem Bau sicherlich in keinem Zusammenhang mit dem eigentlichen Insulin stehen, aber in ihrem biologischen Verhalten z. B. auf den Blutzuckerspiegel ihm nahe verwandt sind. Die Körper der ersten Gattung bezeichnen wir als Rohinsulinfraktion aus weiter unten anzugebenden methodischen Gründen; die der zweiten Gruppe gehören verschiedenen Klassen an und sind zum Teil chemisch wohldefinierte Substanzen.

Daß insulinartig wirkende Körper nicht allein in den Bauchspeicheldrüsen der verschiedensten Tierarten vorkommen, bewies zunächst *J. B. Collip*[1]), der blutzuckervermindernde Substanzen in der Hefe, in Zwiebelblättern, im Salat, in Blättern von grünen Bohnen und von Weizen fand. Er schließt daraus, daß überall da, wo Glykogen oder ihm verwandte Stoffe in der Natur vorkommen, auch ein diese Polysaccharide aufbauendes insulinähnliches Hormon anwesend sein müsse. *Best* und *Scott*[2]) untersuchten verschiedene Organe des Tierkörpers auf Insulin und fanden solches in der Thymus, der Submaxillaris, Thyreoidea, Milz und Leber, ja sogar im Urin. Dieselben Forscher[3]) wiesen dann insulinähnliche Stoffe in Kartoffeln, Reis, Weizen, Rübenwurzeln und Sellerieknollen nach. An den Angaben der Amerikaner ist kaum zu zweifeln, sicher aber ist, daß die unter so verschiedenen

---

[1]) Journ. biol. Chem. **56**, 513, 1923.
[2]) Journ. of the Amer. Assoc. **81**, 382, 1923.
[3]) Journ. of metabol. research **8**, 177, 1923.

Umständen und Versuchsbedingungen aufgefundenen blutzuckerherabsetzenden Substanzen nur zum kleinen Teil mit dem Pankreasinsulin identisch sind. Fällt es doch keinem Wissenschaftler ein, aus der Änderung eines Symptoms auf die Identität des auslösenden Faktors zu schließen. Insbesondere ist das Insulin aus Pankreas so empfindlich gegen alkalische Medien, daß man in den insulinhaltigen Organen eine geringe Säuerung für Zellen und Umspülungsflüssigkeit annehmen müßte, um eine Beständigkeit des Insulins überhaupt zu gewährleisten, wenn man nicht annehmen will, daß das Insulin auch auf einem zweiten Wege aus einer überall im Organismus, z. B. im Blute verteilten und relativ beständigeren Vorstufe im Bedarfsfalle neugebildet wird. Es wäre zur Entscheidung der Frage von Wichtigkeit, zu untersuchen, wie lange das Pankreasinsulin in lebendem Blute, das ja seine amphotere Reaktion mit größter Zähigkeit zu erhalten sucht, beständig ist, und ob das von den *Langerhans*schen Inseln sezernierte Hormon ungeschädigt seinen Hauptangriffsort, die zwischengeschaltete Leber, zu passieren vermag. So erscheint uns vor allem das von *Best* und *Scott*[1]) im Urin aufgefundene insulinartige Prinzip in keinem chemischen Zusammenhang mit dem Pankreasinsulin zu stehen, vielmehr beruht hier, wie wir im folgenden indirekt beweisen werden, die Wirkung auf der Anwesenheit von Phosphaten.

---

Die im folgenden beschriebenen Versuche sind bereits im Spätsommer vorigen Jahres begonnen worden zu einer Zeit, als über die amerikanischen Versuche auf diesem Gebiete kaum etwas bekannt war. Technische Gründe haben ihre bisherige Veröffentlichung verhindert.

Wir haben in einer Reihe von Fällen nach einer für die Isolierung des Pankreasinsulins gebräuchlichen Methode[2]) aus verschiedenen Organen des Menschen, des Rindes und des Hundes die Insulinfraktion gewonnen. Daneben sind Extrakte aus Hefen verschiedener Herkunft, Erbsen und Lupinen, sowie eine Reihe chemisch wohldefinierter Verbindungen in ihrer Wirkung auf den Blutzuckerspiegel von uns geprüft worden.

Bei der Darstellung der Organextrakte haben wir die *Allen*sche Methode[3]) derart modifiziert, daß es möglich ist, die Insulinfraktion bei Fällung der äthylalkoholischen Lösung mit Amylalkohol in einheitlich kalibrierten Gefäßen ihrer Menge nach mit einiger Sicherheit abzuschätzen. Wir nennen diese Fraktion, die noch einigen Reinigungsprozessen unterliegt, bevor sie am Tiere geprüft wird: *Rohinsulin*.

---

[1]) a. a. O.
[2]) *Allen*, *Kimbal*, *Piper* und *Murley*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **20**, 519, 1923; **20**, 413, 1923.
[3]) a. a. O.

Dieses Rohinsulin, das in seinem chemischen und physikalischen Verhalten dem Pankreasinsulin außerordentlich ähnlich ist, unterscheidet sich von ihm fast nur in seiner Wirkung auf den Blutzuckerspiegel. Es ist in manchen Organen, z. B. in der Thyreoidea, in fast gleich großer Menge wie im Pankreas vorhanden, ohne die typische Wirkung des Pankreasinsulins hervorzukehren.

Außer nach der Methode von *Allen* haben wir in einigen Fällen die Organe in anderer Weise verarbeitet. So sind zum Teil auch einfache Alkoholextrakte bei unseren Untersuchungen zur Verwendung gekommen.

Zur Identifikation des Insulins sind außer der biologischen Prüfung nur wenige chemische Reaktionen angegeben. So fand *Dudley*[1]), daß Insulin sowohl mit Pikrinsäure als auch mit Ammoniumsulfat fällbar ist. Wir haben reines Insulin verschiedenster Herkunft auf seine Reaktionen gegen Chemikalien untersucht und folgendes gefunden[2]):

| | | | |
|---|---|---|---|
| Mit Ammoniumchlorid . . . . | keine Fällung, | | |
| „ 30proz. Essigsäure . . . . | „ „ | | |
| „ Eisessig . . . . . . . . . | „ „ | | |
| „ Eisenchlorid . . . . . . . | „ „ | kein Farbumschlag, | |
| „ Ammoniumsulfid . . . . . | „ „ | | |
| „ Magnesiumsulfat . . . . . | „ „ | | |
| „ Kupfersulfat . . . . . . . | „ „ | kein Farbumschlag, | |
| „ Quecksilberchlorid . . . | dicker weißer Niederschlag, | | |
| „ Silbernitrat . . . . . . . | „ „ | „ | *kein AgCl*, |
| „ Kaliumbichromat . . . . | geringe Fällung, | | |
| „ Bromwasser . . . . . . . | zuerst Entfärbung, dann Fällung, | | |
| „ Permanganat . . . . . . . | Entfärbung. | | |

Die *selbstdargestellten* gereinigten Pankreasinsuline gaben diese Reaktion in gleicher Weise, die *Rohinsulinfraktion zeigte alle Fällungen in verstärktem Maße.* Sehr bemerkenswert ist das Verhalten des Insulins gegen Bromwasser und Kaliumpermanganat in der Kälte in neutralem Medium, das auf eine anwesende leicht oxydable Gruppe zurückgeführt werden muß und dadurch die Unbeständigkeit des Insulins bei längerem Stehen recht gut illustriert. Es wäre im Hinblick hierauf wichtig, festzustellen, ob das Insulin bei *Sauerstoffabschluß länger haltbar ist.* Spezifische Eiweißproben ergaben bei sämtlichen untersuchten käuflichen sowohl wie bei den mittels Alkoholfällung gereinigten selbstdargestellten Insulinpräparaten positive Befunde. So zeigten z. B. alle Präparate eine positive Reaktion mit Sulfosalicylsäure.

Bei einem wirksamen selbstdargestellten Pankreasinsulin haben wir versucht, durch Fällung mit $AgNO_3$ eine weitere Reinigung des

[1]) Lancet 1923, S. 5203 (*Dale*).

[2]) In allen Fällen wurden Leerversuche mit dem zugesetzten Desinfizienz 'enommen.

Insulins durchzuführen. Filtrat und Niederschlag wurden mittels Schwefelwasserstoff entsilbert, genau neutralisiert und im Tierversuch geprüft.

*Rückstand:* Kaninchen, 1300 g, 2 Tage vorher mit Insulin behandelt, 1 ccm Rückstandlösung intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,052 | Nach 90 Minuten . . . | 0,084 |
| Injektion. | | „ 120 „ . . . | 0,051 |
| Sofort nachher . . . . | 0,054 | „ 150 „ . . . | 0,050 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,050 | „ 180 „ . . . | 0,047 |
| „ 60 „ . . . | 0,067 | | |

*Filtrat:* Kaninchen, 1200 g, nicht vorbehandelt, 1 ccm intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,083 | Nach 60 Minuten . . . | 0,071 |
| Injektion. | | „ 90 „ . . . | 0,114 |
| Sofort nachher . . . . | 0,083 | „ 120 „ . . . | 0,120 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,091 | | |

Hiernach ruft die Injektion der mit $AgNO_3$ fällbaren Anteile der Insulinlösung einen leichten Anstieg des Blutzuckers hervor, aber nach etwa 2 Stunden sind die alten Verhältnisse hergestellt. Das Filtrat hingegen verursacht einen Abfall um etwa 20 Proz., der bereits nach 90 Minuten von einem starken Anstieg gefolgt ist.

Aus den Fällungsreaktionen lassen sich ebensowenig eindeutige Beziehungen des Insulins zu den Proteinen herleiten, wie man aus der zuletzt angeführten blutzuckererniedrigenden Wirkung des eiweißfreien Filtrats vom Silberniederschlag das Gegenteil beweisen kann. Uns scheint das Rohinsulin in enger Beziehung zum Insulin zu stehen und auf Grund seiner Reaktionen andererseits zur Klasse der Proteine zu gehören. Ob es in chemischer Beziehung eine im Blute und in sämtlichen Organen vorhandene *Vorstufe* des Insulins darstellt, aus dem letzteres durch eine vom Pankreas sezernierte Kinase gebildet werden kann oder ob das Rohinsulin vorzüglich in den Organen mit innerer Sekretion als spezifischer Eiweißkörper vorkommt, der lediglich als Adsorbens *physikalischer Träger* des wirksamen Prinzips ist (z. B. im Pankreas und einigen anderen Organen des Insulins), oder ob es sich endlich um ein zufälliges Nebeneinander zweier im chemischen Verhalten ähnlicher, jedoch voneinander unabhängiger Stoffe handelt, müssen weitere Untersuchungen lehren.

---

Die von uns aus frischen Organen dargestellten Extrakte wurden spätestens und meistens am zehnten Tage (vom Tode des Schlacht-

tieres an gerechnet) am *Kaninchen* biologisch geprüft. Damit ist der Zeitfaktor, der bei der Zersetzlichkeit des Insulins eine wichtige Rolle spielt, praktisch ausgeschaltet worden. Es wurden Kaninchen von durchschnittlich 1 bis 2 kg Gewicht, die *niemals* zuvor mit Insulin oder Eiweißkörpern behandelt worden waren, zu den Versuchen benutzt, so daß auch anaphylaktische Erscheinungen sowie kumulative Wirkungen ausgeschlossen sind. Die Präparate wurden in den meisten Fällen in die linke Ohrvene injiziert, das Blut vom rechten Ohre abgenommen. Vor der Injektion machte man eine Bestimmung des normalen Blutzuckerwertes. Die Versuchstiere haben 24 Stunden vor dem Versuch gehungert. Eine auch beim Menschen feststellbare individuelle Komponente bei der Insulinwirkung haben wir dadurch auszuschalten versucht, daß zu einigen Versuchsreihen Kaninchen des gleichen Wurfes genommen wurden. Große Unterschiede sind uns dabei nicht aufgefallen. Jedoch ist bemerkenswert, daß es bei *jungen* Tieren recht schwer ist, auch durch größte Insulingaben den *hypoglykämischen Komplex* auszulösen, während schwere ältere Tiere mit relativ kleinen Dosen regelmäßig in diesen Zustand zu bringen sind. Mit großen intravenösen Glucoseinjektionen sowie mit Adrenalin ließen sich diese hypoglykämischen Erscheinungen fast regelmäßig kompensieren. In einigen Fällen ist es uns auch gelungen, durch Injektion von Pufferlösungen, z. B. Dinatriumphosphat, die Krämpfe zu kupieren.

Gleich nach der Injektion des Organextraktes und dann in Abständen von meist 30 Minuten wurde der Blutzucker des Versuchstieres mittels der *Bang*schen Methode bestimmt. In einigen Fällen sind Kontrollen nach 24 Stunden gemacht worden, auch haben wir bei manchen Tieren die Körpertemperatur im Laufe des Versuchs verfolgt. Die meisten Versuche wurden nach 3 Stunden abgebrochen, da in der Mehrzahl der Fälle die Haupterscheinungen innerhalb dieser Zeit abgeklungen waren.

Aus den zahlreichen Versuchen mit käuflichem und selbst dargestelltem Insulin seien zunächst einige typische Blutzuckerreihen nach Injektion von Pankreasinsulin angeführt.

1. *Versuch 68.*

Kaninchen, weiß, 3,2 kg, Hungertier. Injektion: 0,5 ccm (10 Einheiten) „Welcome“, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,115 | Nach 60 Minuten . . . | 0,031 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,061 |
| Sofort nachher . . . . | 0,120 | „ 120 „ . . . | 0,212 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,050 | | Exitus |

* bedeutet Injektion.

2. *Versuch 108.*

Kaninchen, weiß, 1600 g, Hungertier. Injektion: 0,5 ccm (10 Einheiten) Insulin „Lilly", intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,148 | Nach 90 Minuten . . . | 0,066 |
| * . . . . . . . . | — | „ 120 „ . . . | 0,096 |
| Sofort nachher . . . . | 0,135 | „ 150 „ . . . | 0,097 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,072 | „ 180 „ . . . | 0,111 |
| „ 60 „ . . . | 0,084 | | |

3. *Versuch 95.*

Kaninchen, schwarz, 1450 g, Hungertier. Pankreasinsulin selbst dargestellt. Rohinsulinschicht aus 1 kg 22 mm. Injektion 0,5 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Temp. °C | Zeit | Blutzucker | Temp. °C |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . | 0,116 | 37,5 | Nach 90 Minuten . | 0,100 | 39,6 |
| * . . . . . . | — | — | „ 120 „ . | 0,090 | 39,6 |
| Sofort nachher . . | 0,131 | 37,5 | „ 150 „ . | 0,095 | 39,3 |
| Nach 30 Minuten . | 0,068 | 38,2 | „ 180 „ . | 0,138 | 39,3 |
| „ 60 „ . . | 0,097 | 39,4 | | | |

4. *Versuch 105.*

Kaninchen, graubraun, 2800 g, Hungertier. Pankreasinsulin selbst dargestellt. Rohinsulinschicht aus 1 kg 25 mm. Injektion 0,5 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,094 | Nach 90 Minuten . . . | 0,076 |
| * . . . . . . . . | — | „ 120 „ . . . | 0,075 |
| Sofort nachher . . . . | 0,102 | „ 150 „ . . . | 0,062 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,101 | „ 180 „ . . . | 0,094 |
| „ 60 „ . . . | 0,071 | | |

Aus der großen Zahl unserer Versuche mit Pankreasinsulin, von denen im vorstehenden vier als Paradigmen angeführt sind, ist zu entnehmen, daß:

1. gleich nach der Injektion, wohl als Folge des Reizes, eine geringe Ausschüttung des Zuckers in das Blut hinein erfolgt;

2. daß meist schon nach 30 Minuten der Abfall des Blutzuckers deutlich wird, der etwa zwischen 60 und 90 Minuten seinen tiefsten Punkt erreicht. Gleichzeitig damit äußert sich in Fällen, in denen der Blutzucker unter 0,050 sinkt, der hypoglykämische Komplex zunächst in einer Parese der hinteren Extremitäten, an die sich bei weiterem Abfall typische klonische Krämpfe anschließen;

3. der Abfall des Blutzuckers nicht kontinuierlich in einer gleichmäßig absteigenden Kurve erfolgt, sondern sich in einer treppenförmigen Figur darstellen läßt. Auf jedes Sinken des Zuckergehaltes erfolgt ein kurzer Niveauanstieg, dem ein weiteres tieferes Absinken nachfolgt;

4. ante exitum meist ein Anstieg des Blutzuckers festzustellen ist, der in vielen Fällen die normalen Werte weit übertrifft.

5. *Versuch 102.*

Kaninchen, schwarzweiß, 1500 g, Hungertier. *Thyreoidea* (Extrakt nach *Allen*). Schicht des Rohinsulins aus 1 kg: 12 mm. Injektion 2 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,110 | Nach 60 Minuten . . . | 0,122 |
| * . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,120 |
| Sofort nachher . . . . | 0,126 | „ 120 „ . . . | 0,116 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,142 | | |

6. *Versuch 94.*

Kaninchen, schwarz, 1300 g. *Thyreoidea* wie in Versuch 4. Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Temp. °C | Zeit | Blutzucker | Temp. °C |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . | 0,154 | 37,5 | Nach 90 Minuten . | 0,122 | 39,8 |
| * . . . . . . | — | — | „ 120 „ . | 0,095 | 39,6 |
| Sofort nachher . . | — | — | „ 150 „ . | 0,118 | 39,3 |
| Nach 30 Minuten . | 0,115 | 39,6 | „ 180 „ . | 0,120 | 39,2 |
| „ 60 „ . | 0,101 | 39,8 | | | |

7. *Versuch 91.*

Kaninchen, schwarz, 1300 g, Hungertier. *Thyreoidea* nach *Collip*. Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,092 | Nach 60 Minuten . . . | 0,096 |
| * . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,105 |
| Sofort nachher . . . . | — | „ 120 „ . . . | 0,105 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,118 | „ 150 „ . . . | 0,112 |

8. *Versuch 117.*

Kaninchen, braun-grau, 1500 g, Hungertier. *Epithelkörperchen* (nach *Allen*). Schicht des Rohinsulin aus 200 g: 5 mm. Injektion 1,0 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . | 0,150 | Nach 60 Minuten . . . | 0,116 |
| * . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,121 |
| Sofort nachher . . . . | 0,107 | „ 120 „ . . . | 0,117 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,109 | „ 150 „ . . . | 0,112 |

9. *Versuch 98.*

Kaninchen, weiß, 1400 g, Hungertier. *Nebennierenextrakt* (*Allen*). Schicht des Rohinsulins aus 1 kg: 8 mm. Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,126 | Nach 75 Minuten . . . | 0,101 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 105 „ . . . | 0,128 |
| Sofort nachher . . . . | 0,201 | „ 135 „ . . . | 0,104 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,117 | „ 165 „ . . . | 0,141 |

10. *Versuch 73.*

Kaninchen, schwarz, 1200 g, Hungertier. *Nebennieren* (*Collip*). Extrakt gibt mit $FeCl_3$ dunkelblaue Färbung, stark adrenalinhaltig. Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker |
|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,120 |
| * . . . . . . . . . | — |

Das Tier bekommt 2 Minuten nach der Injektion starke typische Adrenalinkrämpfe. Exitus nach 10 Minuten, trotz Injektion von 2 ccm Pilocarpin.

11. *Versuch 65.*

Kaninchen, grau, 2 kg, Hungertier. *Leberextrakt* (*Allen*). Schicht des Rohinsulins aus 250 g: 8 mm. Injektion 1 ccm, subkutan.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,114 | Nach 90 Minuten . . . | 0,136 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 120 „ . . . | 0,118 |
| Sofort nachher . . . . | 0,136 | „ 160 „ . . . | 0,138 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,133 | „ 200 „ . . . | 0,127 |
| „ 60 „ . . . | 0,109 | „ 240 „ . . . | 0,124 |

12. *Versuch 106.*

Kaninchen, schwarz, 1425 g, Hungertier. *Milz* (alkoholischer Extrakt). Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,138 | Nach 90 Minuten . . . | 0,121 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 120 „ . . . | 0,103 |
| Sofort nachher . . . . | 0,109 | „ 150 „ . . . | 0,103 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,105 | „ 180 „ . . . | 0,116 |
| „ 60 „ . . . | 0,120 | | |

13. *Versuch 107.*

Kaninchen, silbergrau, 1970 g, Hungertier. *Placenta*, menschlich (nach *Allen*). Schicht des Rohinsulins aus 1 kg: 23 mm. Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,137 | Nach 90 Minuten . . . | 0,112 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 120 „ . . . | 0,100 |
| Sofort nachher . . . . | 0,089 | „ 150 „ . . . | 0,081 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,087 | „ 180 „ . . . | 0,146 |
| „ 60 „ . . . | 0,137 | | |

14. *Versuch 108.*

Kaninchen, schwarz, 1200 g, Hungertier. *Placenta*, alkoholischer Extrakt. Injektion 2 ccm, intravenös.

Vorher: Blutzucker . . . . . . . . . 0,145,

sofort nach der Injektion starke tonische und klonische Krämpfe.

Blutzucker aus rechtem Vorhof . . . 0,145.

15. *Versuch 6.*

Kaninchen, weiß-schwarz, 1440 g, Hungertier. *Bierhefeextrakt*, 24 Stunden mit 60proz. Alkohol. Injektion 1,0 ccm wässeriger Lösung, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,101 | Nach 60 Minuten . . . | 0,055 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,073 |
| Sofort nachher . . . . | 0,093 | „ 120 „ . . . | 0,077 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,093 | „ 150 „ . . . | 0,081 |

16. *Versuch 24.*

Kaninchen, grau, 2000 g, Hungertier. *Hefeextrakt* (Stamm „Frohberg“). Injektion 1 ccm, subkutan.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,090 | Nach 60 Minuten . . . | 0,044 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,052 |
| Sofort nachher . . . . | 0,090 | „ 120 „ . . . | 0,070 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,077 | | |

17. *Versuch.*

Ein nach der Methode von *Allen* dargestellter Extrakt aus gekeimten grünen Erbsen gab keine Fraktion von Rohinsulin.

18. *Versuch.*

Lupinensamen, nach der Vorschrift von *Allen* verarbeitet, zeigte die Rohinsulinschicht kaum angedeutet.

19. *Versuch 24a.*

Kaninchen, grau, 2000 g, Hungertier. *Sekundäres Natriumphosphat*, $Na_2HPO_4$ Injektion 2 ccm 5proz. Lösung, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,104 | Nach 60 Minuten . . . | 0,091 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,076 |
| Sofort nachher . . . . | 0,117 | „ 120 „ . . . | 0,147 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,079 | | |

20. *Versuch 31.*

Kaninchen, grau-schwarz, 1500 g. *Natriumphosphit*, $Na_2HPO_3$. Injektion 2 ccm 5proz. Lösung, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,095 | Nach 30 Minuten . . . | 0,084 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 60 „ . . . | 0,076 |
| Sofort nachher . . . . | 0,105 | „ 90 „ . . . | 0,082 |

21. *Versuch 30.*

Kaninchen, weißgrau, 1500 g, Hungertier. Alkoholischer Extrakt aus *Pankreas-Dispert.* Injektion 2 ccm der wässerigen Lösung, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,088 | Nach 30 Minuten . . . | 0,089 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 60 „ . . . | 0,134 |
| Sofort nachher . . . . | 0,091 | | |

22. *Versuch 32.*

Kaninchen, grau, 2000 g, Hungertier. *Tonophosphan*, Derivat der dimethylaminophosphenyligen Säure. Injektion 1 ccm, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,159 | Nach 60 Minuten . . . | 0,156 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,138 |
| Sofort nachher . . . . | 0,160 | „ 120 „ . . . | 0,143 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,158 | „ 150 „ . . . | 0,136 |

23. Versuch *33.*

Kaninchen, grau, 1600 g, Hungertier. *Tonophosphan.* Injektion 3 ccm intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,140 | Nach 60 Minuten . . . | 0,122 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,092 |
| Sofort nachher . . . . | 0,116 | „ 120 „ . . . | 0,105 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,129 | „ 150 „ . . . | 0,114 |

24. *Versuch 33a.*

Dasselbe Tier am nächsten Tage, nüchtern. *Tonophosphan.*

| Zeit | Blutzucker |
|---|---|
| Nach 20 Stunden . . . | 0,097 |
| „ 25 „ . . . | 0,101 |
| „ 30 „ . . . | 0,105 |

25. *Versuch 67.*

Kaninchen, weiß, 2000 g, Hungertier. *Atophan* löslich, Injektion 0,5 g, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,100 | Nach 40 Minuten . . . | 0,119 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 60 „ . . . | 0,121 |
| Sofort nachher . . . . | 0,117 | „ 80 „ . . . | 0,131 |
| Nach 20 Minuten . . . | 0,131 | „ 100 „ . . . | 0,103 |

26. *Versuch 89.*

Kaninchen, weiß-schwarz, 1250 g, Hungertier. *Atoxyl.*
Injektion 0,5 ccm = 0,075 g, intravenös.

| Zeit | Blutzucker | Zeit | Blutzucker |
|---|---|---|---|
| Vorher . . . . . . . . . | 0,110 | Nach 60 Minuten . . . | 0,115 |
| * . . . . . . . . . | — | „ 90 „ . . . | 0,119 |
| Sofort nachher . . . . | 0,124 | „ 120 „ . . . | 0,107 |
| Nach 30 Minuten . . . | 0,140 | 150 „ . . . | 0,140 |

**Ergebnisse.**

1. *Thyreoidea:* Bei den mit Extrakten der Schilddrüse behandelten Kaninchen ist lediglich in Versuch 94 eine geringe Verminderung des Blutzuckers nachweisbar. In den beiden anderen Fällen bleibt der Blutzuckerspiegel konstant hoch, eher erscheint er etwas erhöht. Die Temperaturzunahme weist auf eine geringe Eiweißbeimengung des Präparats hin.

2. *Epithelkörperchen:* Auch dieses Präparat weist nur eine geringe depressive Tendenz auf den Blutzucker beim Kaninchen auf. Zwar beträgt der Abfall etwa 40 Proz., hält aber nur kurze Zeit an und liegt dann auch noch innerhalb der Normalwerte.

3. *Nebennieren*extrakt, nach *Allen* bereitet, ist nicht ganz frei von Adrenalin. Deswegen zeigen die Blutzuckerwerte zu Anfang eine Steigerung bis um 75 Proz. Die gleichmäßige Konstanz des Blutzuckerspiegels nach der anfänglichen Steigerung kann als Gleichgewichtszustand zwischen Adrenalin- und Insulinwirkung aufgefaßt werden.

*Alkoholische* Nebennierenextrakte zeigen dagegen typische *Adrenalinwirkung.*

4. *Leber:* Hier ist eine kleine Erhöhung des Blutzuckergehaltes nach der Injektion festzustellen. Das Tier zeigte keinerlei Reaktionen.

5. *Milz:* Auf Injektion eines alkoholischen Milzextraktes (wässerige Lösung) erfolgt ein reaktionsloser Abfall des Zuckergehaltes im Blute um 35 Proz., der in diesem Falle längere Zeit anhält.

6. *Placenta:* Die Ergebnisse dieser Versuche sind bemerkenswert. Zunächst enthält die Placenta von allen untersuchten Organen die größte Menge an Rohinsulin, die genau so groß ist wie die aus Pankreas gewonnene. Beide Rohinsuline sind sich außerordentlich ähnlich in ihrem chemischen und physikalischen Verhalten. Der Abfall des Blutzuckers nach Injektion von Placentaextrakt ist mit etwa 45 Proz. erheblich. Die Versuchskurve zeigt einen ähnlichen stufenweisen Verlauf, wie wir ihn beim Pankreasinsulin beschrieben haben.

Dabei ist *alkoholischer* Placentaextrakt für das Kaninchen außerordentlich giftig und führt bei intravenöser Zufuhr in kürzester Zeit unter tonischen und klonischen Krämpfen zum Exitus[1]). Der Einfluß von Placentaextrakten auf den Blutzuckerspiegel ist deswegen interessant, weil diese Drüse gleichsam dem Stoffwechsel des Fötus als regulierendes Organ vorgeschaltet ist. Andererseits erhalten die starken Störungen des Kohlehydratstoffwechsels während der Schwangerschaft durch unsere Befunde eine neue Beleuchtung.

7. *Hefe:* Die Hefe, die schon von *Collip*[2]) in den Bereich der Insulinuntersuchungen gezogen wurde, erwies sich uns als Ausgangsmaterial eines *guten und gleichmäßig wirksamen Insulins.* Wir haben diese Extrakte nach einer besonderen Methode dargestellt. Der Verlauf der Blutzuckerkurve ist aber in diesen Fällen ein gleichmäßiger, ohne die für Insulin charakteristischen Stufen. Ob Pankreasinsulin und Hefeinsulin identisch sind, ist auch aus anderen Gründen recht fraglich. Uns scheint die Wirkung des Hefeinsulins im Gegensatz zum Pankreasinsulin mehr auf einem fermentativen Abbau des verfügbaren Zuckers zu beruhen.

8. Die Salze der Phosphor- und phosphorigen Säure[3]) ebenso wie organische Phosphorderivate sind in dieser Arbeit zum erstenmal im Hinblick auf den Blutzucker untersucht worden. Die Salze beider Säuren erniedrigen, wie aus Versuch 19 und 20 hervorgeht, den Zuckergehalt des Blutes um etwa 25 Proz. Bemerkenswert ist auch hier der stufenweise Abfall der Blutzuckerkurve. Vom Tonophosphan hatten wir eigentlich stärkere Wirkung erwartet. Selbst in großen Dosen

---

[1]) Wir behalten uns die weitere Bearbeitung der Placentaextrakte nach der angegebenen Richtung ausdrücklich vor.

[2]) a. a. O.

[3]) Auch die weitere Bearbeitung der Phosphor- und Arsenverbindungen in Beziehung zum Diabetes behalten wir uns vor.

läßt sich mittels dieses Körpers der Blutzucker nicht erheblich unter normale Werte herunterdrücken, doch ist die Wirkung, wie Versuch 24 zeigt, nachhaltig.

9. Ein Extrakt aus Pankreas-Dispert, dem man eine günstige Wirkung bei Diabetikern nachrühmt, war *unwirksam*.

10. Auch dem Arsen eignet wie dem Phosphor die Eigenschaft, vor allen Dingen Veränderungen in der Leber, dem Hauptlaboratorium des Körpers, auch für Zuckerumsetzungen, hervorzurufen. Wir haben auch aus diesem Grunde als organisches Arsenderivat das Atoxyl untersucht. Seine Wirkung auf den Zuckerspiegel zeigt sich in einer *Erhöhung* um etwa 30 Proz.

11. Gelegentlich der Untersuchungen über Cholerese[1]) konnten wir feststellen, daß das Insulin einen starken Einfluß auf die Gallensekretion auszuüben vermag. Zunahmen von 80 bis 100 Proz. der Gallenmenge wurden beobachtet. Hierin liegt ein indirekter Beweis für die Abhängigkeit des Glykogenaufbaues vom Insulin, indem die Gallensekretion als Ausfluß einer vermehrten Zelltätigkeit des Leberparenchyms angesehen werden kann. Da die Phenylchinolincarbonsäure ein typisches Stimulans für die Lebergallensekretion ist, schien der Einfluß dieses Körpers auf den Blutzuckerspiegel untersuchenswert. Wir haben aber wie beim Arsen statt der erwarteten Depression einen Anstieg des Blutzuckers um etwa 30 Proz. feststellen können.

---

[1]) *Brugsch* und *Horsters*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 38, 367, 1923.

# Über die Wirkung der Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration auf den Flockungsvorgang beim positiven und negativen Eisenhydroxydsol.

Von

**P. Rona** und **Fr. Lipmann.**

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 7. März 1924.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

## 1. Versuche am positiven Sol.

Bei der vergleichenden Beurteilung der Wirkung der Salze auf die Zustandsänderungen kolloidaler Systeme war bisher der Umstand weitgehend außer acht gelassen worden, daß der verschiedene Grad der hydrolytischen Aufspaltung der miteinander verglichenen Salze Konzentrationsänderungen der $H^{\cdot}$-Ionen bewirkte, deren Vernachlässigung nicht übersehbare Fehlerquellen in sich bergen konnte.

Von diesen Überlegungen ausgehend, hatte *Jaques Loeb*[1]) durch seine Versuche an Gelatinelösungen unter strenger Einhaltung konstanter Wasserstoffionenkonzentration beim Vergleich der Salzwirkungen die Existenz der *Hofmeister*schen Ionenfolge für diesen Fall in Frage gestellt. Vielmehr habe sich bei Einhaltung obiger Bedingungen völlige Wirkungsgleichheit der untersuchten einwertigen Anionen (Cl, Br, I, CNS, $NO_3$, $CH_3COO$) herausgestellt. Hier hatte sich also eine durch die Änderung der ($H^{\cdot}$) infolge der verschiedenen Hydrolysegrade der Salze hervorgerufene Änderung des Systems von ausschlaggebender Bedeutung nachweisen lassen. Übertragen wir nun die hier erhaltenen Resultate auf die Vorgänge am hydrophoben Sol, so werden wir wohl im wesentlichen Änderungen des $\zeta$-Potentials zu erwarten haben, indem eine Vergrößerung bzw. Verkleinerung der ($H^{\cdot}$) je nach der Ladung des Sols eine Vergrößerung bzw. Verkleinerung des $\zeta$-Wertes zur Folge haben dürfte. Das anfängliche Maximum der $\zeta$-$c$-Kurve deutet darauf hin, daß schon geringe Konzentrationsänderungen stark wirkender Ionen eine nicht unbedeutende Änderung des Potentials zur Folge haben können. Erst kürzlich haben *Freundlich* und *Wosnessensky*[2]) in Versuchen an elektrolytfrei gemachtem $Fe_2O_3$-Sol gezeigt, von wie großer Bedeutung die Konzentration der gleich geladenen Ionen für die Größe des Flockungswertes der Salze ist.

So gingen wir daran, die bisher an hydrophoben Solen erhaltenen Flockungswerte von diesen Gesichtspunkten aus zu prüfen. Als Sol

[1]) Journ. of general Physiol. **5**, Nr. 5, 1, 665; 2, 693.
[2]) Kolloid-Zeitschr. **33**, 222, 1923.

wurde käufliches Eisenhydroxydsol (*Merck*) verwandt, das nach mehrwöchiger Dialyse einige Monate lang gestanden hatte, also als genügend gealtert zu betrachten ist, um relativ stabile Verhältnisse voraussehen zu lassen, wie sie *Pauli* und *Matula*[1]) zur Erhaltung eindeutiger Resultate bei elektrometrischer Bestimmung der (H˙) fordern. Das verwendete Ausgangssol enthielt 4,678 Proz. $Fe_2O_3$, 0,224 Proz. Cl = 0,062 n. Die Flockungsreihen wurden mit einer zehnfachen Verdünnung obigen Sols in der Weise angestellt, daß durchgehends zu 5 ccm des Sols 1 ccm Elektrolytlösung zugegeben wurde. Die Flockungswerte sind, wenn nicht ausdrücklich anders bemerkt, Zweistundenwerte, die Angaben über die Elektrolytmenge lauten immer auf die Gesamtkonzentration.

Die Messungen der (H˙) wurden in der von *Michaelis* angegebenen Birnelektrode gegen gesättigte Kalomelelektrode gemessen. Wir erhielten ohne besondere Vorsichtsmaßregeln konstante Werte, die bei wiederholten Nachprüfungen sehr gut miteinander übereinstimmten. Der im verwendeten Sol gemessene Wasserstoffexponent betrug 3,06. *Pauli* und *Matula*[2]) geben in einem Sol einen Wert von $p_H$ 7, in einem anderen von $p_H$ 5 an. In einer kürzlich erschienenen Arbeit fanden *Wintgen* und *Bilz*[3]) für verschieden zusammengesetzte $Fe_2O_3$-Sole Werte zwischen $p_H$ 3,4 und 2,7, die mit dem von uns erhaltenen gut übereinstimmen. Der erste von *Pauli* angegebene Wert erscheint uns sehr niedrig, nach unseren Erfahrungen würden wir ein derartiges Sol für recht instabil halten. Hier sind noch eingehende Versuche vonnöten[4]).

Zunächst wurden die Flockungswerte für Na-Salze verschiedener Anionen festgestellt und für diese Werte in der von den Flocken abfiltrierten Flüssigkeit die (H˙) gemessen.

*Tabelle I.* Flockungswerte.

| Elektrolyt | Flockungswert Millimol pro L. | $p_H$ | Elektrolyt | Flockungswert Millimol pro L. | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|
| $NaClO_3$ . . . | 172 | — | Na-Acetat . | 16,4 | 5,52 |
| NaBr . . . . | 160 | 3,71 | NaF . . . . | 5 | 5,29 |
| $NaNO_3$ . . . | 127 | 3,54 | $Na_2SO_4$ . . | 1,6 | 4,14 |
| NaCl. . . . . | 111 | 3,45 | Na-Citrat . | 0,7 | 3,9 |
| NaCNS . . . | 63 | 4,18 | | | |

Wie vorauszusehen, war die (H˙) bei den flockenden Konzentrationen der verschiedenen Salze durchaus nicht gleich, sondern variierte innerhalb zwei Zehnerpotenzen. Um nun zunächst ein Urteil

---

[1]) *Pauli* und *Matula*, Kolloid-Zeitschr. **21**, 49, 1917. — [2]) l. c. — [3]) Zeitschr. f. physik. Chem. **107**, H. 5/6, S. 403; *A. W. Thomas* u. *A. Frieden* fanden die H-Konzentration der bis zur beginnenden Fällung dialysierten Eisen-Sole zu etwa $10^{-5}$. (Journ. of the Americ. chem. Soc. **45**, 2522—2532, 1923.) — [4]) Siehe hierzu *C. L. Wagner*, Kolloid-Zeitschr. **14**, 149, 1914.

darüber zu gewinnen, wieweit die beobachtete Variation auf den Flockungswert einen Einfluß ausübt, stellten wir Reihen für denselben Elektrolyten bei variierter ($H^{\cdot}$) an. Hierzu eignete sich vorzüglich das Puffergemisch Essigsäure-Natriumacetat. Da wir infolge der geringen Dissoziation die freien Anionen der Essigsäure vernachlässigen können, so erhielten wir bei konstantem Gehalt an Na-Acetat und geänderter Essigsäurekonzentration eine Lösung von konstantem Anionengehalt und variierender ($H^{\cdot}$).

*Tabelle II.* Flockungswerte für Acetatpuffer bei konstantem Anionengehalt und variierter ($H^{\cdot}$).

| Na-Acetat Millimol pro L. | $p_H$ | $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}}$ | Na-Acetat Millimol pro L. | $p_H$ | $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 36 | 3,22 | $^{16}/_1$ | 18,5 | 5,21 | $^1/_4$ |
| 31 | 3,46 | $^8/_1$ | 18,2 | 5,30 | $^1/_8$ |
| 33 | 4,18 | $^4/_1$ | 18,5 | 5,45 | $^1/_{16}$ |
| 31 | 4,48 | $^1/_1$ | 16,7 | 5,52 | $^0/_1$ |

Die Tabelle II zeigt zwei Gebiete gleicher Flockungswerte. Um $p_H$ 5 findet sich ein Sprung, vielleicht bedingt durch eine hier gelegene Unstetigkeit der $\zeta$-$C_H$-Kurve. Die Unterschiede dieser beiden Gebiete sind nicht sehr groß, aber durch zahlreiche Versuche gesichert. Die Erhöhung der ($OH'$) sensibilisiert also sozusagen das Sol. Schon geringere Acetatkonzentration erreicht im alkalischeren Gebiet die Fällung als im sauren. Vergleichen wir nun z. B. den Flockungswert vom $NaNO_3$ ($p_H$ 3,5) mit dem von Na-Acetat ($p_H$ 5,6) ohne Essigsäurezusatz und berücksichtigen gleichzeitig auch die Resultate von Tabelle II, so zeigt sich, daß der in Tabelle I verzeichnete Wert für Na-Acetat, verglichen mit dem von $NaNO_3$, zu niedrig ist, denn bei der $p_H$ des $NO_3$-Wertes hat Na-Acetat einen fast doppelt so großen Flockungswert.

Um auch die hier erhaltenen Resultate durch Verwendung anderer Anionen verallgemeinern zu können, suchten wir durch Zusatz von Na-Acetat-Essigsäurepuffer in nicht flockender, jedoch puffernder Konzentration die ($H^{\cdot}$) im Sol konstant zu halten. Zu diesem recht gut gepufferten Sol setzten wir dann die anderen Elektrolyte zu. So erhielten wir die Werte von Tabelle III und IV, wobei wir einmal in stark saurer, einmal in mehr alkalischer Reaktion arbeiteten. Die Flockungswertprozente sind bezogen auf Tabelle I, die von Acetat auf Tabelle II.

Die gewählte Versuchsordnung machte es nötig, auch noch eine Beeinflussung des Flockungswertes durch Acetation mit zu berücksichtigen, wodurch leider die Resultate an Eindeutigkeit etwas einbüßten. Aus Tabelle I ergibt sich, daß die Na-Salze von Cl, Br, $NO_3$ um $p_H$ 3 herum flocken, während CNS, F, $SO_4$, Citrat die Reaktion

*Tabelle III.* Flockungswertprozente bei Konstanthaltung der $p_H$ durch Zusatz von Acetatpuffer $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{16}{1}$.

| Elektrolyt | Flockungswert Proz. | Flockungswert Millimol pro L. | Gehalt an Na-Acetat | | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Flockungswert Proz. | Millimol pro L. | |
| NaBr . . . . | 36 | 60 | 30 | 10 | 3,18 |
| $NaNO_3$ . . . | 50 | 64 | 30 | 10 | 3,18 |
| NaCl. . . . . | 75 | 84 | 30 | 10 | 3,21 |
| NaCNS . . . | 40 | 25 | 30 | 10 | 3,27 |
| NaF . . . . . | 125 | 6,4 | 30 | 10 | 3,46 |
| $Na_2SO_4$ . . . | 66 | 1,01 | 30 | 10 | 3,34 |
| Na-Citrat . . . | 70 | 0,5 | 30 | 10 | 3,14 |

*Tabelle IV.* Flockungswertprozente bei Konstanthaltung der $p_H$ durch Acetatpuffer $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{1}{8}$.

| Elektrolyt | Flockungswert Proz. | Flockungswert Millimol pro L. | Gehalt an Na-Acetat | | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Flockungswert Proz. | Millimol pro L. | |
| $NaNO_3$ . . . | 33 | 42 | 50 | 10 | 5,03 |
| NaCl. . . . . | 30 | 35 | 50 | 10 | 5,06 |
| NaBr. . . . . | 15 | 24 | 50 | 10 | 4,98 |
| NaCNS . . . | 40 | 25 | 50 | 10 | 5,09 |
| NaF . . . . . | 70 | 3,5 | 50 | 10 | 5,31 |
| $Na_2SO_4$ . . . | 31 | 0,5 | 50 | 10 | 5,21 |
| Na-Citrat . . . | 27 | 0,17 | 50 | 10 | 5,29 |

mehr oder weniger nach der alkalischen Seite verschieben. Gehen wir von den Erfahrungen bei Acetat (Tabelle II) aus und übertragen diese auf die anderen Ionen, so werden wir in konstant saurer Reaktion für NaF einen hohen Flockungswert zu erwarten haben, da hier vorher eine Verschiebung der Reaktion nach der alkalischen Seite stattfand, und zwar über die kritische Zone um $p_H$ 5 hinaus. Die Änderung der $p_H$ durch die anderen Elektrolyte läßt keine wesentlichen Abweichungen erwarten, da diese sämtlich nicht die kritische Zone erreichen. Durch die Resultate von Tabelle III wird diese Annahme bestätigt, der Wert für F liegt als einziger höher als in Tabelle I, alle anderen liegen unterhalb der dort verzeichneten Werte und summieren sich glatt mit dem für Acetat. Nur Br hat einen wesentlich geringeren Flockungswert, was wir auf eine gegenseitige Beeinflussung von Br und Acetat in sensibilisierendem Sinne zurückzuführen geneigt sind, da für diese Abweichung die $(H^{\cdot})$ keine Erklärung gestattet.

Tabelle IV verzeichnet die Werte bei konstantem $p_H$ um 5. Ausgehend von dem eben erörterten Vergleich mit Acetat, werden wir hier eine Verschiebung der Flockungswerte im umgekehrten Sinne zu erwarten haben. Für NaF hat sich die Reaktion nicht geändert, alle

anderen Anionen haben ein Medium erhalten, das von dem in Tabelle I betrachteten über die kritische Zone ($p_H$ 5) hinaus abweicht. Hier finden wir: die absoluten Werte liegen durchweg unter denen von Tabelle I. Der Wert von F liegt relativ hoch. Wie eben erörtert, hat sich für dies Anion die Reaktion nicht geändert ($p_H$ 5,3 gegen 5,29), die anderen absoluten Werte betragen fast durchweg nur die Hälfte der von Tabelle III. Br zeigt auch hier wieder einen auffallend geringen Wert. Die Resultate werden noch deutlicher, wenn wir berücksichtigen, daß das eine Mal die gleiche Acetatkonzentration mit 30 Proz., das andere Mal mit 50 Proz. gewertet wurde. Wir waren ja hier in der Lage, für beide H˙-Gebiete absolute Werte zu erhalten. Bringen wir nun die verschiedenen Flockungswerte 1. (ohne Puffer), 2. (bei saurer Pufferung), 3. (bei mehr alkalischer Pufferung) in Reihen nach fallender Konzentration, so zeigen diese keine Verschiedenheit wesentlicher Art, wenn wir das Nach-rechts-rücken des Br in der eben erörterten Art erklären.

*Reihe der Anionen nach fallendem Flockungswert.*

1. Ohne $p_H$-Konstanz:

   [Br, $NO_3$, Cl] > CNS > F > Sulfat > Citrat.

2. Bei $p_H = 3{,}3$:

   [Cl, $NO_3$, Br] > CNS > F > Sulfat > Citrat.

3. Bei $p_H = 5{,}3$:

   [Cl, $NO_3$, CNS, Br] > F > Sulfat > Citrat.

Die Klammern bedeuten, daß die Flockungswerte sehr nahe beieinander liegen.

Die flockenden Konzentrationen differieren für die untersuchten H˙-Konzentrationsgebiete nur wenig. Die Differenzen zwischen den Werten in mehr saurer und mehr alkalischer Lösung bewegen sich zwischen 50 und 80 Proz. bei einer Genauigkeit der Versuchsanordnung von 10 bis 15 Proz.

Die in Tabelle III und IV erhaltenen Resultate ließen es nun erwünscht erscheinen, auch andere Anionenkombinationen auf ihre flockende Wirkung hin zu untersuchen. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß der als konstant bezeichnete Elektrolyt von vornherein in der angegebenen relativen Konzentration (in bezug auf die absoluten Werte von Tabelle IV, für Cl auf Tabelle III) dem Sol zugesetzt wurde. In dem so vorbereiteten Sol wurden die Flockungswerte für die angegebenen Elektrolyte bestimmt und hieraus in bezug auf Tabelle IV bzw. III die Flockungswertprozente berechnet (für die Cl-Kombinationen mußten wir als Bezugstabelle III benutzen, da hier ein saureres Sol, $p_H$ 2,6, verwendet wurde und die durch die Pufferung erreichte $p_H$ unterhalb 5, der in Tabelle II verzeichneten kritischen Zone, liegt). Das Sol wurde durch Acetatpuffer auf möglichste $p_H$-Konstanz gebracht.

*Tabelle V.* Elektrolytkombinationen in gepuffertem Sol durch $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{1}{8}$.
Konzentration an Na-Acetat = 10 Millimol pro L.
(50 Proz. des Flockungswertes).

| Zugesetzter Elektrolyt | Flockungswert Proz. | Flockungswert Millimol pro L. | Konstanter Elektrolyt | Flockungswert Proz. | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|
| $NO_3$. . . . | 55 | 23 | Br | 50 | um 5 |
| Cl . . . . . | 60 | 22 | „ | 50 | |
| CNS . . . | 40 | 10,4 | „ | 50 | |
| F . . . . . | 60 | 1,8 | „ | 50 | |
| $SO_4$ . . . . | 40 | 0,22 | „ | 50 | |
| Cl . . . . . | 60 | 21 | $NO_3$ | 30 | |
| CNS . . . | 63 | 16 | „ | 30 | |
| F . . . . . | 60 | 2,1 | „ | 30 | |
| $SO_4$ . . . . | 83 | 0,42 | „ | 30 | |
| CNS . . . | 60 | 30 | Cl | 15 | 4,66 |
| $NO_3$. . . . | 80 | 77 | „ | 15 | 4,57 |
| CNS . . . | 83 | 41 | „ | 7 | — |
| $NO_3$. . . . | 80 | 77 | „ | 7 | — |

Wie die hier erhaltenen Werte zeigen, haben wir es durchweg mit einer rein summierenden Wirkung der verschiedenen Anionen zu tun, wie wir es schon oben für Acetat beschrieben haben.

### 2. Die Umladung mit Na-Citrat und ihre Abhängigkeit von der ($H^{\cdot}$).

Die Möglichkeit, das positive $Fe_2O_3$-Sol negativ aufzuladen, ist eine lange bekannte Tatsache (*Powis*, *Kruyt*). In letzter Zeit wurden hierüber besonders Versuche von *Kruyt* und *van der Spek*[1]) angestellt. Ihnen gelang die Umladung außer mit NaOH auch noch mit $Na_2HPO_4$. Dieser Befund ließ es wahrscheinlich erscheinen, auch noch andere Elektrolyte zu finden, mit denen das Sol sich umladen läßt. In dem von uns verwandten Sol konnten wir zwar für beide oben erwähnte Elektrolyte mit zunehmender Konzentration eine Verminderung der Flockungsintensität feststellen, doch war keine Klärung des Sols zu erreichen. Bei der genaueren Untersuchung der Flockungsverhältnisse mit Na-Citrat konnten wir feststellen, daß hier eine glatte Peptisation bei steigender Elektrolytkonzentration stattfand (s. Tab. VI).

In der Mitte der peptisierten Zone (Röhrchen 12) ergab sich $p_H = 6{,}56$, also in der Nähe des Neutralpunktes, aber noch im sauren Gebiet. Hielten wir jetzt die Reaktion in möglichen Grenzen konstant um $p_H = 4$, indem wir in der oben beschriebenen Weise pufferten, so schien es zuerst, als ob überhaupt keine Umladung stattgefunden habe. Alle Gläser zeigten intensivste Flockung. Erst nach zweimaligem Umschütteln und 18stündiger Beobachtung zeigte es sich, daß auch hier eine deutliche, wenn auch nicht vollständige Klärung stattgefunden hatte.

[1]) Kolloid-Zeitschr. **25**, 17, 1919.

*Tabelle VI.* Unregelmäßige Reihe mit Na-Citrat.

| Nr. | Na-Citrat Millimol pro L | Sofort | Nach 3 Std. | Kataphorese | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,26 | — | — | — | — |
| 2 | 0,4 | — | + | — | — |
| 3 | 0,6 | + | ++ | — | — |
| 4 | 0,9 | +++ | +++ | kathodisch | — |
| 5 | 1,3 | +++ | +++ | ? | 3,93 |
| 6 | 2,0 | ++ | +++ | — | — |
| 7 | 2,9 | ++ | ++ | anodisch | — |
| 8 | 4,4 | + | + | — | — |
| 9 | 6,7 | + | ± | — | — |
| 10 | 10 | ± | — | — | — |
| 11 | 14 | — | — | — | — |
| 12 | 22 | — | — | — | — |
| 13 | 32 | — | — | — | — |
| 14 | 50 | — | — | — | 6,85 |
| 15 | 77 | ± | ± | — | — |
| 16 | 111 | + | ± | — | — |
| 17 | 167 | ++ | ++ | — | — |

*Tabelle VII.*

Unregelmäßige Reihe mit Na-Citrat bei Anwesenheit von Acetatpuffer $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{16}{1}$.

| Nr. | Na-Citrat Millimol pro L. | Sofort | Nach 4 Std. | Nach 18 Std. | Kataphorese | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,22 | — | — | — | — | — |
| 2 | 0,3 | + | + | + | — | — |
| 3 | 0,4 | ++ | ++ | ++ | — | — |
| 4 | 0,6 | +++ | +++ | | kathodisch | — |
| 5 | 0,8 | | +++ | | — | — |
| 6 | 1,1 | | +++ | | 0 | 3,12 |
| 7 | 1,5 | | +++ | +++ | — | — |
| 8 | 2,1 | | +++ | | anodisch | — |
| 9 | 2,9 | | +++ | | — | — |
| 10 | 4,2 | | +++ | | — | — |
| 11 | 5,9 | | +++ | | — | 3,58 |
| 12 | 8,3 | | +++ | | — | — |
| 13 | 11 | +++ | +++ | | — | — |
| 14 | 16 | | ++ | | — | — |
| 15 | 22 | | ++ | ++ | — | — |
| 16 | 31 | | ++ | + | — | — |
| 17 | 43 | | + | ± | — | — |
| 18 | 68 | | + | ± | — | — |
| 19 | 83 | | ++ | ++ | — | — |
| 20 | 119 | | ++ | +++ | — | — |
| 21 | 167 | | +++ | +++ | — | 5,04 |

Hiernach schien es uns nun von Interesse zu sein, für verschiedene $(H^{\cdot})$ die Punkte zu bestimmen, in denen das Sol gerade eben umgeladen wurde.

*Tabelle VIII.*
Isoelektrische Zonen bei verschiedener $(H^{\cdot})$.

| Na-Citrat Millimol pro L. | Wanderungsrichtung | $p_H$ | Puffer |
|---|---|---|---|
| | **a** | | |
| 1,08 | schwach anodisch | — | — |
| 1,01 | ? | 3,12 | Na-Acetat 10 Millimol pro L. |
| 0,9 | ? | | |
| 0,83 | kathodisch | — | $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{16}{1}$ |
| | **b** | | |
| 1,2 | anodisch | — | kein Puffer |
| 1,1 | ? | 3,93 | |
| 1,0 | ? (kathodisch) | | |
| 0,86 | kathodisch | — | |
| | **c** | | |
| 0,86 | anodisch | 5,43 | Na-Acetat 10 Millimol pro L. |
| 0,8 | anodisch | | |
| 0,74 | 0 | — | — |
| 0,67 | ? | 5,36 | $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{1}{8}$ |
| 0,56 | kathodisch | 5,35 | — |

Aus den Tabellen geht zunächst hervor, daß die Anwesenheit des Acetatpuffers die Konzentration von Na-Citrat, die gerade umladet, kaum beeinflußt. Eine Änderung der $(H^{\cdot})$ um zwei Zehnerpotenzen drückt sich in einer Verringerung der umladenden Konzentrationen an Citrat um etwa 50 Proz. aus. Die Änderung der $(H^{\cdot})$ in der untersuchten Breite ändert somit die die Umladung gerade erreichende Citratkonzentration kaum. Dagegen konnten wir feststellen, daß bei saurerer Reaktion zur Erreichung einer Peptisation fast die zehnfache Konzentration an Citrat nötig war. Eine völlige Klärung bei $p_H$ etwa 4,5 war, wie aus Tabelle VII hervorgeht, überhaupt nicht zu erreichen.

Dem Vorgange von *Freundlich* und *Buchler*[1]) folgend, die kürzlich eine größere derartige Versuchsreihe von positiv umgeladenen Solen veröffentlichten, gingen wir nun daran, das mit Citrat negativ aufgeladene $Fe_2O_3$-Sol auf sein Verhalten flockenden Elektrolyten gegenüber zu untersuchen. Hierzu stellten wir uns eine größere Menge des Sols her, das m/60 Na-Citrat enthielt. Nach zwei- bis dreitägigem Stehenlassen erhielten wir so ein völlig klares negatives Sol. Hiermit wurden die im folgenden verzeichneten Versuchsreihen angestellt.

---

[1]) Kolloid-Zeitschr. **32**, 5, 305, 1923.

*Tabelle IX.* Mit Citrat peptisiertes Sol.

| Flockender Elektrolyt | Flockungswert Millimol pro L. |
|---|---|
| NaCl | gesättigte Lösung trübt am nächsten Tage ohne zu flocken |
| $\frac{Na_2SO_4}{2}$ | |
| KCl | |
| LiCl | |
| $CaCl_2$ | 15 |
| $BaCl_2$ | 17 |
| $AlCl_3$ | 8 |
| $Al_2(SO_4)_3$ | 8,3 |

Es ergaben sich im großen und ganzen die für negative Sole typischen Resultate. Als flockende Ionen erwiesen sich die Kationen $\left(NaCl\text{, flockt ebenso wie } \frac{Na_2SO_4}{2}\right)$, die Flockungswerte nehmen mit zunehmender Wertigkeit ab. Nur der Wert für $Al^{\cdots}$ liegt, verglichen mit dem sonst bei diesem außerordentlich stark flockenden Ion erhaltenen Resultat und auch mit der hier erhaltenen Differenz der Werte von Na, K, Li und Ca, Ba äußerst hoch. In unserem Falle scheint uns die Annahme erlaubt, daß das zum Teil in kolloidaler Form anwesende $Al(OH)_3$ durch die herrschende Citratkonzentration negative Ladung erhalten hat, da ja überhaupt das $Al_2O_3$-Sol dem $Fe_2O_3$-Sol sehr ähnlich ist. Wir können also in der Lösung annehmen: negatives $Fe_2O_3$-Sol, negatives $Al_2O_3$-Sol und HCl als einzig flockendes Moment.

Die von den Flocken abfiltrierte Flüssigkeit ergab ein $p_H$ von 3,96, also eine $(H^{\cdot})$, bei der das Sol schon nicht mehr beständig ist (Tabelle VII).

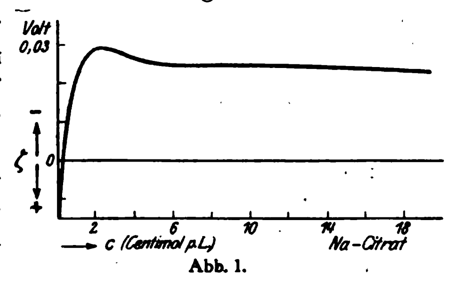


Abb. 1.

In einer Reihe von Überführungsversuchen bei verschiedenen Citratkonzentrationen konnten wir aus den erhaltenen Wanderungsgeschwindigkeiten die $\zeta$-Werte berechnen; so erhielten wir eine $\zeta$—$c$-Kurve von ähnlicher Gestalt, wie sie *Freundlich* und *Buchler* bei positiv umgeladenen Solen fanden. Auch hier ändert sich der einmal erreichte Maximalwert kaum mit zunehmender Citratkonzentration.

*Tabelle X.* (Abb. 1.)

| Na-Citrat-Konzentration Millimol pro L. | $u$ (cm/sec. auf 1 Volt/cm) | $\zeta$ (Volt) | Na-Citrat-Konzentration Millimol pro L. | $u$ (cm/sec. auf 1 Volt/cm) | $\zeta$ (Volt) |
|---|---|---|---|---|---|
| 11 | 0,000 163 | 0,024 | 41 | 0,000 178 | 0,026 |
| 17 | 0,000 195 | 0,029 | 56 | 0,000 175 | 0,026 |
| 28 | 0,000 195 | 0,029 | 167 | 0,000 160 | 0,024 |

Ergänzend stellten wir auch noch analoge Versuche mit einem durch NaOH negativ geladenen Sol an. Da wir, wie oben erwähnt, durch Zusatz von NaOH zu unserem Sol nicht zu einer Klärung gelangen konnten, und die durch Eingießen von $FeCl_3$ in NaOH erhaltenen Sole nur in für unsere Zwecke zu niedrigen Konzentrationen zu erhalten waren, stellten wir uns nach einer älteren Vorschrift von *H. W. Fischer*[1]) ein durch Glycerin peptisiertes Sol her.

Herstellung des Sols:

30 ccm n NaOH,
12 „ Glycerin,
260 „ $H_2O$,
98 „ $^3/_{10}$ n $FeCl_3$.

Die Lösungen wurden in dieser Reihenfolge miteinander vermischt, zum Schluß das $FeCl_3$ langsam unter ständigem Umrühren eingetropft. Das Sol ist völlig klar und von schön rubinroter Farbe, $p_H = 11{,}45$, es wandert anodisch. Das Verhalten gegen Elektrolyte ist ein dem citratpeptisierten Sol völlig entsprechendes.

*Tabelle XI.*

Flockungswerte am glycerinpeptisierten negativen Sol (Millimol pro L.).

| Elektrolyt | NaOH-Glycerin-Sol. $p_H = 11{,}45$ | NaOH-Glycerin-Sol + 1 : 10 n/10 Essigsäure $p_H = 9{,}95$ |
|---|---|---|
| NaCl . . . . . . . . . | trübt ohne zu flocken | 83 Millimol pro L. |
| KCl . . . . . . . . . | gesättigt | 83 „ „ „ |
| LiCl . . . . . . . . . | dreimal normal | 56 „ „ „ |
| $CaCl_2$ . . . . . . . . . | 1,4 Millimol pro L. | 0,9 „ „ „ |

Stumpfte man die stark alkalische Reaktion des Sols durch Zusatz von 1 : 10 n/10 Essigsäure ab ($p_H = 9{,}95$), so blieb das Sol zwar zunächst völlig klar, zeigte aber, wie Tabelle XI zeigt, eine größere Empfindlichkeit gegen Elektrolyte, auch hielt es sich nur etwa 30 Stunden klar.

Auch das alkalischere Sol trübte sich nach 3 bis 4 Tagen und war nach 1½ Wochen völlig ausgeflockt. Das Citratsol ist sehr lange haltbar; seit 4 Wochen hält es sich unverändert klar (s. hierzu auch das Verhältnis der Flockungswerte der beiden Sole zueinander). Hier fanden wir noch eine eigentümliche Erscheinung. $p_H$-Messung des ganz frisch hergestellten, noch stark getrübten Sols ergab 6,43, nach 2½ Tagen (ganz feiner Schleier) 6,72, nach 3 Wochen (völlig klar) 7,64. Während also die Teilchengröße offenbar abgenommen hatte, war die Reaktion deutlich alkalischer geworden. Vielleicht können wir hier eine der Austauschadsorption ähnliche Erscheinung annehmen,

[1]) Diese Zeitschr. 27, 223, 1910.

etwa in der Art, daß das sauer hydrolysierende $FeCl_3$ mit Na-Citrat zu einem anodischen Komplex zusammentritt. Hierbei bildet sich neutrales NaCl, und es werden saure Valenzen gebunden. Diese Reaktion strebt langsam mit zunehmender Peptisation einem Gleichgewicht zu.

## Zusammenfassung.

Die Versuche über die Rolle der $(H^{\cdot})$ bei der Elektrolytflockung ergaben, daß es sich im wesentlichen um eine geringe, aber deutliche Sensibilisierung mit abnehmender $(H^{\cdot})$ handelt, die wir auf eine Herabsetzung des $\zeta$-Potentials zurückzuführen geneigt sind. Die Zusammenstellung der Flockungswerte ergibt eine der *Hofmeister*schen Reihe ähnliche Folge der Anionen; besonders der niedrige Wert für F, das ja als stark hydratisiert anzunehmen ist, fällt auf; CNS flockt stärker, als es seiner Reihenstellung entspricht. Diese Ionenfolge wird durch Änderung der $(H^{\cdot})$ nicht verschoben. Die Unauflösbarkeit im Ultramikroskop und andere Eigenschaften sprechen zwar für eine starke Hydratation der Solteilchen, jedoch das Verhalten gegen Elektrolyte macht es notwendig, das Sol in die Reihe der hydrophoben einzuordnen, wie dies auch *Freundlich* in seiner Kapillarchemie tut. Dementsprechend bleiben auch die hier beobachteten Erscheinungen in ihrem Ausmaß weit hinter der durch die $(H^{\cdot})$-Verschiebung beobachteten Änderung am Gelatinesol zurück, die *Loeb* mitteilen konnte. Man darf wohl aus diesen Beobachtungen den Schluß ziehen, daß mit zunehmender Hydratation eben auch die durch die Hydrolyse der Salze hervorgerufenen Fehlerquellen, die ja nichts anderes als eine Änderung der $(H^{\cdot})$ sind, an Wichtigkeit für die Beurteilung der erhaltenen Werte zunehmen.

Was die Umladung des $Fe_2O_3$-Sols durch Citrat anlangt, beschäftigte uns am meisten die Möglichkeit der negativen Aufladung in stark saurer Reaktion. Wir konnten feststellen, daß diese Umladung eine recht geringe Abhängigkeit vom Grade der Säuerung zeigte.

---

# Über die Anlagerung von Chloralhydrat an Eiweiß.

Von

**Fritz Lieben.**

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Wien.)

*(Eingegangen am 8. März 1924.)*

Im vergangenen Jahre wurde im hiesigen Institut damit begonnen, die Verhältnisse bei der Anlagerung von Acetaldehyd an Eiweiß zu studieren. Ich habe diese Versuche wieder aufgenommen und mich zunächst auch mit Acetaldehyd beschäftigt. Ich mußte jedoch nach den ersten Orientierungsversuchen diese Absicht wegen der heftigen Wirkung der genannten Substanz auf die Schleimhäute aufgeben und mich nach einem anderen geeigneten Stoff umsehen, der durch leichte Wasserlöslichkeit und bequeme quantitative Bestimmbarkeit für den vorliegenden Zweck in Betracht kommen konnte. Als ein solcher empfahl sich das Chloralhydrat $CCl_3CH(OH)_2$, das schön kristallisiert, wasserlöslich ist und nach der leicht auszuführenden Titrationsmethode von *V. Meyer* und *Heffter*[1]) rasch und genau bestimmt werden kann. Es ist ferner bekannt, daß dieser Substanz infolge ihrer Verwendung in der Medizin biochemisches Interesse zukommt, auch im Zusammenhang mit Eiweißkörpern, mit denen sie ja schon vor dem Eindringen in die Zellen im Blute zusammentrifft.

Von Literaturangaben sei eine Notiz aus der Arzneimittellehre von *Bernatzik* und *Vogl*[2]) erwähnt, nach der *Byasson* fand, daß Chloralhydrat in konzentrierter wässeriger Lösung mit einer Eiweißlösung einen Niederschlag erzeugt, aus dem sich das Chloralhydrat durch Wasser oder Alkohol auswaschen läßt. Nach *Personne*[3]) vereinigt sich Albumin mit Chloralhydrat zu einer Verbindung, die, mit Alkalien behandelt, Chloroform gibt; diese Verbindung ist löslich in einem Überschuß von Chloralhydrat oder Albumin und soll der Fäulnis widerstehen.

---

[1]) *V. Meyer* und *H. Heffter*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **6**, 600, 1873; vgl. auch *Garnier*, Centralbl. **1908**, I, 1492.

[2]) *W. Bernatzik* und *A. E. Vogl*, Lehrb. d. Arzneimittellehre, 2. Aufl. 1891, S. 627.

[3]) *Personne*, Maly, Jb. **4**, 10, 1874.

Die Chloralhydratlösung wird mit einem geringen Überschuß an titriertem Alkali versetzt und damit etwa 10 Minuten stehengelassen. Das Alkali spaltet das Chloralhydrat in $CHCl_3$ und Ameisensäure, die natürlich als Salz gebunden wird, der Überschuß an Alkali wird dann mit gestellter Säure und Phenolphthalein zurücktitriert, z. B. 0,1654 g Chloralhydrat werden mit 12,5 ccm n/10 NaOH versetzt, nach 10 bis 15 Minuten werden 2,4 ccm n/10 $H_2SO_4$ zurücktitriert; Differenz 10,1 ccm; 1 ccm n/10 Chloralhydratlösung enthält 0,0165 g Chloralhydrat (F): 10,1.F = 0,1666 g gefunden; oder

0,328 g Chloralhydrat verbrauchen (als Differenz): 20,0 ccm n/10 NaOH .F = 0,330 g gefunden.

0,661 g Chloralhydrat verbrauchen (als Differenz): 40,5 ccm n/10 NaOH .F = 0,668 g gefunden.

0,662 g Chloralhydrat verbrauchen (als Differenz): 42,6 ccm n/10 NaOH .F = 0,703 g gefunden (106 Proz.).

Es wurden 5 g Casein in 45 ccm n/10 NaOH gelöst und gegen Phenolphthalein genau neutralisiert, die Flüssigkeit wird auf ½ Liter aufgefüllt; ferner wurden 3,308 g Chloralhydrat in 200 ccm $H_2O$ gelöst.

Nun wurden zu wechselnden Mengen der Caseinlösung je 10 ccm = 0,1654 g Chloralhydrat zugefügt, jede Probe mit einem Alkaliüberschuß versetzt und nach 10 bis 15 Minuten zurücktitriert. Die so bestimmbare Menge Chloralhydrat wird im folgenden als *frei*, der nicht bestimmbare, fehlende Rest als *gebunden* bezeichnet werden, ohne über die Natur dieser Bindung zunächst irgendwelche Annahme zu machen.

Es ergaben:

| | Chloralhydrat | | | |
|---|---|---|---|---|
| | freies g | gebundenes g | freies in Proz. | gebundenes in Proz. |
| 5 ccm Lösung, i. e. 0,05 g Casein | 0,163 | 0,002 | 99 | 1 |
| 10 „ „ „ „ 0,1 g Casein | 0,155 | 0,010 | 94 | 6 |
| 20 „ „ „ „ 0,2 g Casein | 0,129 | 0,036 | 78 | 22 |
| 40 „ „ „ „ 0,4 g Casein | 0,111 | 0,054 | 67 | 33 |
| 60 „ „ „ „ 0,6 g Casein | 0,101 | 0,064 | 61 | 39 |
| 100 „ „ „ „ 1,0 g Casein | 0,084 | 0,081 | 51 | 49 |
| 100 „ [1] „ „ „ 2,0 g Casein | 0,048 | 0,117 | 29 | 71 |
| 200 „ [1] „ „ „ 4,0 g Casein | 0,045 | 0,120 | 28 | 72 |
| Eine weitere Reihe 0,8 g Casein | 0,066 | 0,099 | 40 | 60 |
| ergab 1,2 g Casein | 0,059 | 0,106 | 36 | 64 |

Die Kombination dieser zwei Reihen läßt trotz starker „Schwankungen" doch deutlich den „Gang" der Bindung erkennen, und zwar ***steigt der gebundene Betrag Chloralhydrat mit der verwendeten Caseinmenge.***

Bei einer weiteren Versuchsreihe wurden je 0,331 g Chloralhydrat verwendet; es wurden gefunden:

[1]) Lösung von 10 g Casein auf 500 ccm Wasser.

Bei Zusatz von:

| Casein g | Chloralhydrat freies g | gebundenes g | freies in Proz. | gebundenes in Proz. |
|---|---|---|---|---|
| 0,5 | 0,279 | 0,052 | 84 | 16 |
| 1 | 0,253 | 0,078 | 76 | 24 |
| 1,5 | 0,213 | 0,118 | 64 | 36 |
| 2 | 0,208 | 0,123 | 63 | 37 |

Nun wurde die (überschüssige) n/10 NaOH bei der Titration länger einwirken gelassen, um den Einfluß der *Einwirkungsdauer* auf das Resultat der Bestimmung zu erkennen. So wurde der eben angeführte Versuch wiederholt, jedoch die n/10 NaOH erst nach 2½ Stunden zurücktitriert; es ergaben nunmehr

| Casein g | Chloralhydrat freies g | gebundenes g | freies in Proz. | gebundenes in Proz. |
|---|---|---|---|---|
| 0,5 | 0,335 | 0 | 100 | 0 |
| 1 | 0,309 | 0,022 | 93 | 7 |
| 1,5 | 0,290 | 0,041 | 88 | 12 |
| 2 | 0,278 | 0,044 | 86 | 14 |

Der „Gang“ der Reihe ist derselbe wie oben, doch sieht man, daß durch die Einwirkung des überschüssigen NaOH das gebundene Chloralhydrat allmählich von Eiweiß frei gemacht wird, und zwar *um so rascher, je weniger Casein anwesend ist.* Diese Tatsache läßt natürlich den obigen Zahlen nur eine gewisse Bedeutung als Vergleichswerte untereinander, schränkt aber ihre absolute Bedeutung dahin ein, daß jegliche Differenz in der Einwirkungsdauer der überschüssigen NaOH das Verhältnis zwischen freiem und gebundenem Chloralhydrat verschieben muß; auch erklären sich so die obigen Schwankungen bei der Kombination von Reihen, bei denen die Einwirkungsdauer nicht genau dieselbe war. Es wurde auch der folgende Dauerversuch angestellt, bei dem zu je 1 g Casein wechselnde Mengen Chloralhydrat zugeführt wurden; dabei wurde die überschüssige NaOH über Nacht einwirken gelassen; es wurden am nächsten Tage gefunden:

Bei Zusatz von

| Chloralhydrat g | Freies Chloralhydrat g |
|---|---|
| 0,099 | 0,104 |
| 0,165 | 0,182 |
| 0,331 | 0,348 |
| 0,496 | 0,560 |

Es wird also diesmal alles zugesetzte Chloralhydrat als frei wiedergefunden, das Plus von einigen Prozenten kann durch (in Gegenwart von Eiweiß erhöhte) Titrationsfehler erklärt werden.

Betrachten wir nun eine Versuchsfolge, bei der der Caseingehalt konstant blieb und der Chloralhydratzusatz gewechselt wurde, so finden wir für 1 g Casein (gelöst wie oben):

| Chloralhydrat | | | Für 2 g Casein: Chloralhydrat | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Zusatz g | geb. Menge g | Proz. | Zusatz g | geb. Menge g | Proz. |
| 0,033 | 0,025 | 76 | 0,165 | 0,080 | 48 |
| 0,083 | 0,048 | 58 | 0,331 | 0,100 | 30 |
| 0,165 | 0,073 | 44 | 0,496 | 0,194 | 39 |
| 0,331 | 0,080 | 24 | 0,662 | 0,179 | 27 |
| 0,430 | 0,093 | 22 | | | |
| 0,579 | 0,005 | 1 | | | |

Die bei ungleichmäßiger Einwirkungsdauer angestellten Versuche zeigen, wenn auch nur in roher Andeutung, daß die gebundene Menge Chloralhydrat zunächst mit dem Chloralhydratzusatz ansteigt, von gewissen Chloralhydratwerten an aber wieder abfällt, das prozentuale Verhältnis sinkt durchweg bei steigendem Zusatz. Größerer Caseingehalt bedingt steigende Bindung (wie oben).

---

Es lag nahe, nach dem *Orte der Bindung* des Chloralhydrats in der Eiweißmolekel zu suchen. Man könnte zunächst an die freien Aminogruppen im Eiweiß denken, doch ergibt eine einfache Überlegung, daß ein in der Art z. B. des Formaldehyds verankertes Chloralhydrat bei der Titration stets als *frei* und nicht als gebunden bestimmt werden mußte, da ja (wie bei der Titration nach *Sörensen*) für jede verstopfte $NH_2$-Gruppe, mithin auch für jede so gebundene Chloralhydratmenge, die entsprechende Zahl Carboxylgruppen frei werden müßte. Mit der hier verwendeten Titrationsmethode kann also ein an den $NH_2$-Gruppen sitzendes Chloralhydrat nicht von dem wirklich freien unterschieden werden und das aus der Differenz Zusatz minus freies Chloralhydrat berechnete *gebundene* Chloralhydrat kann *nicht* an dieser Stelle sitzen. Die Möglichkeit des Vorhandenseins dieser Bindungsart kann allerdings nicht negiert werden.

Immerhin erschien es interessant, die Verhältnisse bei einem Casein (je 1 g) zu untersuchen, dessen Aminogruppen durch 10 ccm neutralisierten Formaldehyds verstopft worden waren; es zeigte sich bei wechselnden Mengen Chloralhydrats eine erhöhte Bindung (gegen Versuche ohne HCOH). Als jedoch 0,165 g Chloralhydrat mit 10 ccm neutralem HCOH *ohne Eiweiß* zusammengebracht wurden, verbrauchten die ersteren nach 10 Minuten nur mehr 2,3 ccm n/10 NaOH statt

10 ccm; die beiden Stoffe reagieren also miteinander, und dadurch erklärt sich auch die Abnahme an freiem Chloralhydrat bei Gegenwart von Eiweiß.

**Ausfällung des Caseins durch n/10 $H_2SO_4$.**

Die oben erwähnte Tatsache der Abhängigkeit des Verhältnisses: freies zu gebundenem Chloralhydrat von der *Einwirkungsdauer* der überschüssigen NaOH machte es notwendig, zu versuchen, diesen Einfluß auszuschalten, um so *gleichmäßige Verhältnisse* für alle Versuche zu schaffen. Dies konnte durch Ausfällung des Eiweißes geschehen; wobei das freie Chloralhydrat nunmehr im Filtrat bestimmt wurde, indes das gebundene Quantum mit dem Eiweiß auf dem Filter zurückbleiben sollte. Ich möchte nun gleich erwähnen, daß diese Annahme irrig war, daß vielmehr *stets alles Chloralhydrat, freies und gebundenes, ins Filtrat geht.* Trotzdem führe ich die folgenden Filtrationsversuche an, da bei ihnen der Farbenumschlag schärfer konstatiert werden konnte und die Regelmäßigkeiten der Chloralhydratbindung in viel befriedigenderer Weise als oben hervortraten.

Zunächst wurde also z. B. 1 g Casein in 9 ccm n/10 NaOH gelöst, die Lösung (mit Phenolphthalein) neutral gestellt, das Chloralhydrat zugefügt und nun mit 9 ccm n/10 $H_2SO_4$ gefällt. Das Volumen wird gemessen (besser ist es, das Volumen *vor* der Fällung zu messen und die Kubikzentimeter Säure, die man zuzusetzen gedenkt, hinzuzuaddieren) und über Kieselgur durch ein Faltenfilter filtriert; das Volumen des Filtrats wird gemessen und dieses mit einem bestimmten Überschuß n/10 NaOH versetzt, schließlich nach 10 Minuten mit n/10 $H_2SO_4$ zurücktitriert. Die verbrauchten Kubikzentimeter n/10 NaOH werden auf die Gesamtmenge umgerechnet und mit dem Faktor (0,0165) multipliziert. Auch dieses Vorgehen brachte jedoch unbefriedigende Resultate, die Filtrate waren trüb, enthielten noch Eiweiß; in dem Verhältnis zwischen freiem und gebundenem Chloralhydrat war keine Gesetzmäßigkeit wahrzunehmen; z. B. für 2 g Casein

Chloralhydratzusatz 0,099 g. 0,079 g frei, 0,020 g gebunden, Chloralhydrat 79 Proz. frei, 21 Proz. gebunden.
Chloralhydratzusatz 0,165 g. 0,107 g frei, 0,058 g gebunden, Chloralhydrat 61 Proz. frei, 39 Proz. gebunden.
Chloralhydratzusatz 0,331 g. 0,223 g frei, 0,108 g gebunden, Chloralhydrat 67 Proz. frei, 33 Proz. gebunden.
Chloralhydratzusatz 0,496 g. 0,434 g frei, 0,062 g gebunden, Chloralhydrat 85 Proz. frei, 15 Proz. gebunden.

Ein prinzipieller Fehler in obiger Versuchsanordnung wurde mir erst klar, als ich die *Reaktion* bei Ausfällung des Caseins *ohne Chloralhydratzusatz* untersuchte. 1 g Casein in 9 ccm n/10 NaOH gelöst, mit 9 ccm n/10 $H_2SO_4$ gefällt und filtriert, gab im Filtrat (für die Gesamtmenge berechnet) noch einen Verbrauch von 2,5 ccm n/10 NaOH. 2 g Casein verbrauchten, analog behandelt, 4,2 bis 5,2 ccm n/10 NaOH. Unter diesen Verhältnissen wird also bei Chloralhydratzusatz ein *zu*

*großer Alkaliüberschuß*, mithin auch eine *zu große Menge freien Chloralhydrats* vorgetäuscht, und es mußte nun zunächst durch weitere Versuche die *Neutralitätsbedingung* für das Filtrat in Abwesenheit von Chloralhydrat festgestellt werden. Es wurden zu diesem Zwecke drei Proben zu 2 g Casein in je 18 ccm n/10 NaOH gelöst, die 1. mit 18 ccm, die 2. mit 22 ccm, die 3. mit 26 ccm n/10 $H_2SO_4$ gefällt; die Niederschläge wurden abfiltriert, das Filtrat 1 war trüb, 2 und 3 waren klar; auf die Gesamtmenge umgerechnet, verbrauchte 1. 4,7 ccm, 2. 0,9 ccm, 3. 1,2 ccm n/10 NaOH. Man sieht, daß bei einem Überschuß von 4 ccm n/10 $H_2SO_4$ (2), das Filtrat dem Neutralpunkt (für Phenolphthalein) am nächsten liegt.

Im Falle 1 wird NaOH noch mit dem Casein als Caseinat in Lösung gehalten (daher die Trübung), dementsprechend ist ein Teil der Säure überschüssig; im Falle 2 ist das Casein völlig ausgefällt und reißt den Überschuß an Säure (als Ampholyt) mit sich, so daß das Filtrat angenähert neutral ist; bei 3 kann das gefällte Casein den größeren Säureüberschuß nicht mehr mitreißen, so daß das Filtrat wieder stärker sauer erscheint.

So wurden nun in den folgenden Versuchen

0,5 g Casein in 4,5 ccm n/10 NaOH gelöst, mit 5,5 ccm n/10 $H_2SO_4$ gefällt.
1 g „ „ 9 „ n/10 „ „ „ 11 „ n/10 „ „
2 g „ „ 18 „ n/10 „ „ „ 22 „ n/10 „ „
3 g „ „ 27 „ n/10 „ „ „ 33 „ n/10 „ „

Die Filtrate für die Gesamtmenge verbrauchten dann noch 0,4 bzw. 0,5, 1,0 und 2,1 ccm n/10 NaOH. Natürlich kann man unschwer dem Neutralpunkt noch näher kommen, doch konnte im vorliegenden Falle der so im „Blindversuch“ ermittelte Wert, ohne wesentlich die Versuchsfehler zu überschreiten, von den Titrationswerten bei Chloralhydratzusatz abgezogen werden, so daß sich der Versuch nunmehr folgendermaßen gestaltet[1]); z. B.:

2 g Casein ohne Chloralhydrat verbrauchen nach der Fällung mit 22 ccm n/10 $H_2SO_4$ (s. oben) noch im Mittel: 1 ccm n/10 NaOH; bei Zusatz von 0,165 g Chloralhydrat zur Caseinatlösung wird ein Volumen von 55 ccm gemessen, plus 22 ccm n/10 $H_2SO_4$ gibt 77 ccm Gesamtvolumen, das Filtrat (über Kieselgur) von 58 ccm verbraucht (nach 10 Minuten) 4,8 ccm n/10 NaOH, für die Gesamtmenge (77 ccm): 6,4 ccm; $6{,}4 - 1{,}0 = 5{,}4$; 5,4.F (= 0,0165) = 0,089 g Chloralhydrat.

Bei Zusatz von 0,165 g Chloralhydrat sind also 0,089 g frei, 0,076 g gebunden, bzw. 54 Proz. frei, 46 Proz. gebunden. In der angegebenen Art wurden nun sämtliche Versuche ausgeführt, deren Resultate in der folgenden Tabelle zusammengefaßt sind; es werden nur die *gebundenen* Mengen, absolut und in Prozenten des Zusatzes, mitgeteilt.

---

[1]) Eine Unsicherheit bleibt allerdings noch durch den Umstand bestehen, daß die Filtrate *mit* Chloralhydrat ja auch *stets* etwas Eiweiß enthalten.

| Chloralhydratzusatz | 0,5 g Casein, gebunden | | 1 g Casein, gebunden | | 2 g Casein, gebunden | | 3 g Casein, gebunden | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. |
| 0,033 | 0,026 | 78 | 0,021 | 64 | 0,033 | 100 | — | — |
| 0,066 | 0,040 | 61 | 0,040 | 61 | 0,046 | 70 | 0,066 | 100 |
| 0,099 | 0,048 | 48 | im Mittel: 0,046 | 46 | 0,064 | 64 | 0,082 | 82 |
| 0,165 | 0,033 | 27 | im Mittel: 0,048 | 29 | 0,076 | 46 | 0,074 | 45 |
| 0,331 | 0,016 | 5 | 0,026 | 8 | 0,054 | 16 | 0,070 | 21 |
| 0,496 | 0,006 | 1 | 0,017 | 3 | 0,050 | 10 | 0,052 | 11 |
| 0,662 | — | — | 0 | 0 | 0,022 | 3 | 0,030 | 5 |
| 0,827 | — | — | — | — | 0 | 0 | 0,025 | 3 |

Die Zusammenstellung läßt unverkennbare Regelmäßigkeiten zutage treten. Betrachten wir die *absoluten* Werte in den Vertikalkolonnen, so zeigt sich wieder die auffallende Tatsache, daß die gebundenen Mengen mit dem Chloralhydratzusatz bis zu einem *Maximum* ansteigen, bei weiterer Steigerung des Zusatzes aber wieder bis gegen Null abnehmen; in Prozenten des Zusatzes berechnet, zeigt sich stets eine *Abnahme* der Bindung mit steigendem Chlorhydratzusatz, bei kleinem Chloralhydratzusatz sind z. B. bei 2 g Casein 100 Proz. gebunden, bei hohem Chloralhydratzusatz 0 Proz.

Betrachten wir die Horizontalkolonnen, so zeigt sich trotz einiger störender Unregelmäßigkeiten, die sich wohl durch weitere Versuchsreihen ausgleichen ließen, auch hier eine *Steigerung* der gebundenen Menge Chloralhydrats (sowohl absolut als in Prozenten des Zusatzes) mit der verwendeten Caseinmenge; eine Proportionalität ist allerdings nicht wahrzunehmen.

0,5 g Casein binden in Maximo 0,048 g Chloralhydrat, für 1 g Casein berechnet 0,096 g.
1 g Casein binden in Maximo 0,048 g Chloralhydrat, für 1 g Casein berechnet 0,048 g.
2 g Casein binden in Maximo 0,076 g Chloralhydrat, für 1 g Casein berechnet 0,038 g.
3 g Casein binden in Maximo 0,082 g Chloralhydrat, für 1 g Casein berechnet 0,027 g.

Mit steigender Menge Casein wird relativ zur Caseinmenge immer weniger gebunden.

Wird nun in den Filtraten der Alkaliüberschuß länger einwirken gelassen, so zeigt sich, wie gesagt, daß stets *alles* Chloralhydrat ins Filtrat gegangen ist, und zwar zum Teil in Gesellschaft von Eiweiß, da auch die *klaren* Filtrate (s. oben) mit Phosphorwolframsäure noch einen Niederschlag geben. Diese infolge Chloralhydratzusatz durchs Filter gegangenen Eiweißmengen bedingen eben die Bindung des Chloralhydrats.

Z. B. Zusatz von 0,331 g Chloralhydrat zu 1 g Casein, Volumen 58 ccm; davon filtriert 44 ccm, verbrauchen 16,6 ccm n/10 NaOH, für die Gesamtmenge 21,9 ccm, 21,9 — 0,5 = 21,4; 21,4.F = 0,353; die Rücktitration erfolgte hier nach 4 Stunden.

Auch die obigen Befunde sind also von der Einwirkungsdauer nicht unabhängig. Die gebundenen Beträge in der obigen Tabelle sind ferner, wie man sieht, kleiner als die ohne Eiweißfällung weiter oben festgestellten. Man muß sich wohl vorstellen, daß durch die Ausfällung des Eiweißes ein (vielleicht von vornherein besonders locker gebundener) Teil des Chloralhydrats abgespalten wird, während der Rest in Bindung bleibt und mit dem Eiweiß ins Filtrat geht.

Kurven, mit dem Chloralhydratzusatz als Abszisse und der gebundenen Menge als Ordinate, steigen in der Art von Adsorptionskurven ab, *kehren aber dann, sehr langsam abfallend, zur Abszisse zurück.* Diese letztere bemerkenswerte Tatsache könnte mit einer *Veränderung der Eiweißmolekel bei höheren Chloralhydratzusätzen* zusammenhängen, die dasselbe für den zugesetzten Stoff unzugänglich macht. Es wäre oben auch an die Adsorptionsverhältnisse zu denken, mit denen sich *A. M. Williams*[1]) beschäftigt hat und die auch eine Adsorption des *Lösungsmittels* in Betracht ziehen; dabei erhält man Kurven, die nach Passieren eines Maximums sich zur Abszisse senken, ja eine *negative Adsorption* des gelösten Stoffes vortäuschen können; derlei wurde z. B. von Frau *Schmidt-Walter* bei der Adsorption von Essigsäure in Benzol oder Toluol durch Tierkohle, ferner von *Gustafson* bei der Adsorption von Phenol in Äthylalkohol durch Tierkohle beobachtet, auch in wässeriger Lösung wurde Ähnliches wahrgenommen. *Freundlich* (l. c., S. 246) bemerkt zusammenfassend hierzu folgendes: „Kurzum weitaus die meisten nicht ganz regelrechten Adsorptionskurven zeigen bei wachsender Konzentration ein Maximum in der adsorbierten Menge und ein darauf folgendes Sinken unter Umständen bis zu einer negativen Adsorption. Es steht dies durchaus in Einklang mit der theoretisch zu erwartenden allgemeinen Adsorptionskurve. Nur für verdünnte Lösungen ist die gewöhnliche Adsorptionsisotherme zu setzen, wobei der Begriff ‚verdünnt' von Stoff zu Stoff verschieden sein kann, je nach der Konzentration, bei der das Maximum der Adsorption erreicht wird."

Erwärmen einer Casein-Chloralhydratprobe auf dem Wasserbade bedingt Freiwerden des ganzen Zusatzes binnen einiger Zeit.

Es wurden schließlich zwei Lösungen mit je 0,5 g Casein in 4,5 ccm n/10 NaOH, zu deren einer 0,331 g Chloralhydrat zugesetzt worden waren, verglichen, und zwar in bezug auf sämtliche gebräuchlichen

---

[1]) *H. Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., S. 241ff.; dort Literatur.

Fällungsreaktionen für Eiweiß; auch die *Millon*sche Probe auf Tyrosin und die Voisenetprobe auf Tryptophan wurden ausgeführt; es ergab sich in sämtlichen Versuchen *volle Gleichheit der Reaktion* in beiden Proben.

**Versuche mit Blutserum.**

Mit Blutserum vom Pferde wurden mehrere analoge Versuche durchgeführt. Es seien zunächst einige direkte Bestimmungen *ohne Ausfällung* der Eiweißkörper mitgeteilt.

5 ccm Serum (ohne Chloralhydrat) verbrauchen 1,6 bis 1,9 ccm n/10 NaOH, dieser Betrag ist von den Titrationswerten natürlich abzuziehen. Es wurden so gefunden für 5 ccm Serum (mit 0,0635 g N, i. e. 0,397 g Eiweiß) bzw. 10 ccm Serum (Einwirkungsdauer des Alkali: 15 Minuten):

| Für 5 ccm Serum | | | Für 10 ccm Serum | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Chloralhydratzusatz | Gebundene Menge | | Chloralhydratzusatz | Gebundene Menge | |
| g | g | Proz. | g | g | Proz. |
| 0,033 | 0,033 | 100 | — | — | — |
| 0,066 | 0,045 | 68 | — | — | — |
| 0,099 | 0,046<br>0,050 | 47<br>50 | 0,099 | 0,073 | 74 |
| 0,165 | 0,048<br>0,031 | 30<br>19 | 0,165 | 0,066 | 40 |
| 0,331 | 0,082<br>0,057 | 25<br>17 | 0,331 | 0,095 | 29 |
| 0,496 | 0,037<br>0,009 | 7<br>2 | 0,496 | 0,112 | 25 |
| 0,662 | 0,015<br>0,012 | 3<br>2 | — | — | — |
| bei kurzer Einwirkungsdauer (10 Minuten) | | | | | |
| 0,662 | 0,071 | 11 | — | — | — |

Es ist mit Rücksicht auf die Färbung des Serums nicht leicht, den Umschlagspunkt zu erkennen, auch bewirkt eine geringe Schwankung in der Einwirkungsdauer große Ausschläge.

Bei mehrstündiger Einwirkungsdauer findet man auch hier alles Chloralhydrat als *frei*. Der Verlauf der Bindung ist derselbe wie beim Casein. Mit steigendem Zusatz zuerst Zunahme der gebundenen Menge, dann Abnahme bis gegen Null. Die gebundene Menge in Prozenten des Zusatzes fällt durchwegs. Die doppelte Serummenge bedingt etwas höhere Bindung.

Ich versuchte ferner, das Eiweiß durch *Alkoholfällung* zu beseitigen. Auch hier geht stets alles Chloralhydrat, freies und gebundenes, ins Filtrat, wie durch analoge Versuche, wie beim Casein, festgestellt wurde. Das Ausmaß der Bindung variiert mit der Menge des zugesetzten (gegen Phenolphthalein neutralen) Alkohols.

Die Versuche mit je 5 ccm Serum ergaben:

| Chloralhydratzusatz g | Gebundene Menge g | Proz. | Zusatz an Alkohol ccm |
|---|---|---|---|
| 0,033 | 0,033 | 100 | 20 |
| 0,066 | 0,053 | 80 | 20 |
| 0,099 | (0,053 | 54 | 20) |
| | 0,046 | 46 | 30 |
| 0,165 | 0,053 | 32 | 20 |
| 0,331 | (0,115 | 35 | 20) |
| | 0,050 | 15 | 30 |
| 0,496 | 0,037 | 7 | 38 |
| 0,662 | (0,159 | 24 | 30) |
| | 0,010 | 2 | 50 |

Es zeigt sich im allgemeinen eine befriedigende Übereinstimmung mit der vorhergehenden Tabelle, und zwar ist bei reichlicherem Zusatz von Alkohol im allgemeinen die Übereinstimmung besser als bei geringerem Zusatz (s. die eingeklammerten Werte), bei dem die gebundenen Mengen stets etwas höher sind. Eine deutliche Abnahme der Bindung durch Alkoholfällung wird in dem untersuchten Bereich (zum Unterschied von der Säurefällung des Caseins) nicht bewirkt. Natürlich spielt auch hier die Dauer der Einwirkung des Alkalis eine Rolle.

Wenn wir die Verhältnisse beim Menschen in Betracht ziehen, so kommen wir zu folgender Überlegung: Die Blutmenge des erwachsenen Menschen von 60 kg beträgt etwa 3 Liter, das Blutserum etwa 1,5 Liter, der Eiweißgehalt des Serums kommt nach *Schmidt* (*Vierordts* Tabellen) auf etwa 8 Proz. 1½ Liter Blutserum enthalten also 120 g Eiweiß. Nun ist die *Maximaldosis* von Chloralhydrat 3,0 g. Es kämen also auf 1 g Chloralhydrat 40 g Eiweiß ($^1/_{40}$); in obigen Versuchen bewirkt der *geringste* Zusatz 0,033 g Chloralhydrat zu 0,397 g Eiweiß (etwa $^1/_{11}$) 100 Proz. Bindung; man darf also wohl schließen, daß bei den viel geringeren Mengen im menschlichen Körper gleichfalls *alles Chloralhydrat an die Bluteiweißkörper gebunden* wird. Nach *Archangelsky*[1]) tritt beim Hunde bei einem Prozentgehalt von 0,11 bis 0,12 Proz. Chloralhydrat im Blute bereits Respirationsstillstand ein; schon die kleinste, oben verwendete Menge von 0,033 g Chloralhydrat in 5 ccm Serum käme einem Gehalt von 0,66 Proz. Chloralhydrat gleich.

### Zusammenfassung.

1. Chloralhydrat vermag mit Eiweiß eine sehr lockere Bindung einzugehen, die sich darin äußert, daß die gebundene Menge nach

[1]) *C. Archangelsky*, Maly, Jb. **31**, 134, 1901.

der Titrationsmethode von *V. Meyer* und *Heffter* nicht bestimmt wird, wenn der Alkaliüberschuß (wie bei reinen Chloralhydratlösungen) nur 10 bis 15 Minuten einwirken gelassen wird.

2. Bei länger dauernder Einwirkung des Alkaliüberschusses wird stets alles zugesetzte Chloralhydrat frei, d. h. nach *Meyer* und *Heffter* bestimmbar. (Das gleiche ist bei Erwärmen der Lösung der Fall.)

3. Die Kurven für die gebundenen Mengen Chloralhydrat (Ordinate) gegen den Gesamtzusatz (Abszisse) steigen zunächst wie Adsorptionskurven an, senken sich aber bei höheren Zusätzen wieder, sehr langsam abfallend, bis zur Abszisse; bei diesen wird das Eiweiß offenbar für Chloralhydrat unzugänglich oder es handelt sich dabei um eine Adsorption in „konzentrierter Lösung" nach *Williams*.

4. Mit steigenden Mengen Eiweiß wird an absoluten Mengen und in Prozenten des Zusatzes mehr, an relativen Mengen (bezogen auf 1 g Eiweiß) weniger gebunden.

5. Wird das Eiweiß durch Säure- oder Alkoholfällung niedergeschlagen, so geht stets das ganze Chloralhydrat ins Filtrat, und zwar begleitet von einer gewissen Menge Eiweiß, die Chloralhydrat bindet; die Bestimmungen im Filtrat zeigen dieselben Regelmäßigkeiten wie direkte Bestimmungen. Bei der Säurefällung des Caseins sind die gebundenen Mengen allerdings geringer, die Regelmäßigkeiten treten aber schärfer hervor. Bei der Alkoholfällung im Pferdeserum ist eine Abnahme der Bindung nicht zu konstatieren, die Regelmäßigkeiten sind weniger deutlich.

6. Die Mengen Chloralhydrat, die in vivo zur Verwendung kommen, sind im Verhältnis zu den Eiweißkörpern des Blutes so geringfügig, daß hier eine totale Bindung (100 Proz.) angenommen werden kann.

7. In den Fällungs- und Farbreaktionen des Eiweißes bewirkt der Chloralhydratzusatz keinerlei Änderung.

Berichtigung zu dem Aufsatze von *S. Fränkel* und *M. Fonda:*

# Über das Hormon (Geschlechtsstoff) der Placenta und das Corpus luteum, sowie die Lipoide des Corpus luteum

**in Bd. 141, H. 4/6 dieser Zeitschrift.**

Von

**Otfried O. Fellner** (Wien).

*(Eingegangen am 18. März 1924.)*

*Fränkel* und *Fonda* schreiben: „daß *E. Hermann* aus der Placenta ein Lipoid dargestellt hat, welches im Tierversuch einen mächtig entwicklungsfördernden Einfluß auf das gesamte Genitale des weiblichen Tieres, und zwar auf die Vulva, Vagina, Tuben und Ovarien, ebenso aber eine große Entwicklungsförderung auf die Brustdrüsenapparate beider Geschlechter hat". „Diese Substanz bewirkt (angeblich nach *Hermann*), daß sich jugendliche unentwickelte Kaninchen im Verlaufe weniger Tage zur Vollreife entwickeln, und sorgt für die anatomische Erhaltung des Genitalapparates und der Brustdrüsen, sowie für deren physiologische Entwicklung: Brunst und Gravidität". Ferner der weitere Satz: „Die zuerst von *E. Hermann* im hiesigen Laboratorium in der Placenta gefundene Substanz darzustellen".

All dieses ist unrichtig. Daß der wirksame Körper im Corpus luteum und der Placenta ein Lipoid ist und daß er obige angeblich von *Hermann* gefundene Eigenschaften besitzt, habe ich lange vor *Hermann* als erster[1]) beschrieben und darüber im Jahre 1912 eine vorläufige Mitteilung erscheinen lassen.

*Fränkel* und *Fonda* behaupten ebenso wie *Hermann:* nach Vakuumdestillation den Körper rein dargestellt zu haben. Daß die Vakuumdestillation nichts Positives leistet, habe ich wiederholt festgestellt. Dies ergibt sich aus der Arbeit von *Hermann* selbst und ebenso aus der von *Fränkel* und *Fonda.* Im Vorlauf und Nachlauf ist nach ihren eigenen Angaben nichts enthalten, was nicht durch vorhergehende gründliche Bearbeitung entfernt werden kann. Daß die Vakuumsdestillation aber sogar schlecht ist, wie sich jetzt aus der Arbeit von *Fränkel* und *Fonda* ergibt, und nunmehr fallen gelassen werden muß, hätte ich nicht gedacht. *Fränkel* und *Fonda* betonen nämlich, daß „der Extrakt durch die Vakuumdestillation minder wirksam wird, daß der Körper eine Veränderung erfahren hat". Wenn er aber eine Veränderung erfährt, so ist das nicht der reine Körper, sondern ein Zersetzungsprodukt. Demnach ist die von *Fränkel* und *Fonda*

---

[1]) Zentralbl. f. allgem. Pathol. **23**, 1912; ausführliche Arbeit: Arch. f. Gynäk. **100**, 1913 usw.

aufgestellte Formel nicht die Formel des Körpers, sondern eines Extraktes, der das Zersetzungsprodukt vielleicht neben dem wirksamen Körper und anderen Lipoiden enthält. Auch die von *Fränkel* und *Fonda* festgestellten Löslichkeitsverhältnisse des „Körpers“ habe ich und nicht *Hermann* gefunden. Nur eine von mir angegebene Eigenschaft findet sich in der Mitteilung von *Fränkel* und *Fonda* nicht, nämlich die Löslichkeit in 75proz. Alkohol (Methylalkohol). Durch Einschaltung des 75proz. Alkohols bin ich imstande, alle die Beimengungen, die *Fränkel* und *Fonda* mühselig mit allen möglichen auf 15 Druckseiten enthaltenen chemischen Prozeduren ausfällen, auszuschalten. Denn alle diese Körper sind in 75proz. Alkohol nicht löslich. Mittels dieser so einfachen Methode und noch einigen anderen Reinigungsverfahren erhalte ich ein Endprodukt, das jedenfalls reiner ist als dasjenige, das *Fränkel* und *Fonda* der Vakuumdestillation zuführten. Nichtsdestoweniger wage ich es nicht, dieses Endprodukt als Körper zu bezeichnen. Aber ebensowenig ist es das von *Fränkel* und *Fonda*. Ganz abgesehen von der Zersetzung, haben wir gar keinen Beweis dafür, daß bei der Vakuumdestillation mit dem wirksamen Lipoid keine anderen unwirksamen Lipoide übergehen. Diese Bezeichnung eines Extraktes als Körper ist ganz willkürlich. Man kann höchstens sagen, daß eine weitere Spaltung des Extraktes derzeit unmöglich ist. Nur die Darstellung in Kristallen oder im kristallinischen Zustande würde die Berechtigung für die Behauptung, einen Körper dargestellt zu haben, ergeben. Der Satz also in der Arbeit von *Fränkel* und *Fonda* „diese Substanz konnten wir rein darstellen“, ist nicht allein unbewiesen, sondern nach den Versuchen von *Fränkel* und *Fonda* selbst widerlegt.

Auch der Nachweis, daß im Corpus luteum und in der Placenta das gleiche Lipoid vorhanden ist, wurde zuerst von mir erbracht, und nicht von *Hermann*, wie *Fränkel* und *Fonda* irrtümlich angeben.

Bemerkungen zu dem Aufsatz *N. O. Engfeldts:*

# „Klinische Methode zur Bestimmung des Acetons und der β-Oxybuttersäure in kleinen Harnmengen“

in Bd. 144, Heft 5/6 dieser Zeitschrift.

Von

**Alfred Lublin.**

(Aus der medizinischen Klinik Breslau.)

*(Eingegangen am 26. März 1924.)*

Die kritischen Erörterungen *Engfeldts* über die von mir angegebenen Mikromethoden zur getrennten quantitativen Bestimmung des Acetons und der β-Oxybuttersäure im Harn und Blut[1]) betreffen in der Hauptsache das Verfahren für *Harn*bestimmungen. Da *Engfeldt* den von mir gebrauchten Ausdruck „Essigsäurezusatz zur Bindung der Phenole“ beanstandet, so darf ich kurz bemerken, daß diese Ausdrucksweise allerdings insofern mißverständlich war, als es sich dabei nicht um eine Bindung der Phenole, sondern um eine Bindung des Ammoniaks durch eine *schwache* Säure handelt, bei deren Anwendung eine Spaltung der Phenolätherschwefelsäuren nicht zu befürchten ist.

Daß ich mich seinerzeit veranlaßt sah, ein *Mikro*verfahren unter teilweiser Zugrundelegung der *Shaffer-Engfeldt*schen Makromethode auszuarbeiten, geschah deshalb, weil sich die *Shaffer-Engfeldt*sche Makromethode vor allem wegen ihres mühseligen und zeitraubenden Enteiweißungs- und Entzuckerungsprozesses nicht für den Gebrauch in einer Klinik eignet, in der täglich zehn und mehr Diabetikerharne zu untersuchen sind. Während man nämlich nach der *Engfeldt*schen Methode im besten Falle vier Analysen an einem Tage ausführen kann, lassen sich mit meinen Methoden ohne jede Schwierigkeit zwanzig und mehr Analysen bewältigen.

Die Beanstandungen *Engfeldts* beziehen sich in der Hauptsache darauf, daß ich auf den Enteiweißungs- und Entzuckerungsprozeß verzichte, und daß nach meiner Methode die Ausbeute an β-Oxybuttersäure zu niedrig sein soll. Immerhin erkennt *Engfeldt* aber auch an, daß meine Methode in dem einen und anderen Punkte Vorteile bietet, wie z. B. in der Einführung des Mikroprinzips und in der Aufnahme des Destillats in einer Hypojoditlösung.

Was nun die *Enteiweißung* des Untersuchungsmaterials anlangt, so enteiweiße natürlich auch ich das *Blut*, da man es sonst nicht destillieren kann. Ich bediene mich dabei allerdings nicht der *Engfeldt*schen Methode, sondern des modifizierten Verfahrens nach *Folin* und *Wu* (Dauer 2 Minuten),

---

[1]) Klin. Wochenschr. **18**, 894, 1922; **35**, 1748, 1922; **46**, 2285, 1922; diese Zeitschr. **133**, H. 4/6, S. 626, 1922.



da es mir trotz wiederholter Bemühungen häufig nicht gelungen ist, das nach *Engfeldt* vorbehandelte Blut genügend zu enteiweißen.

Auf die *Entzuckerung* des Untersuchungsmaterials glaube ich allerdings auf Grund ausgedehnter Untersuchungen verzichten zu können, da Kontrolluntersuchungen mit den bewährten Makromethoden nach *Embden-Schmitz* und *Magnus-Levy* eindeutig zeigten, daß selbst ein Zuckergehalt des Harns von 4 Proz. (vgl. Tabelle I, S. 631, Bd. 133 dieser Zeitschrift) keinen nachweislichen Einfluß auf das Resultat hat. Mithin muß wohl der durch Glykuronsäuren bedingte Jodbindungsfehler so klein sein, daß er innerhalb der Fehlergrenze dieser Makromethoden liegt. Der Zuckergehalt des Blutes ist völlig ohne Belang für die Genauigkeit des Resultates, wie aus folgender Beleganalyse hervorgeht[1]): Es wurden 0,2 ccm einer 0,25proz. Glucoselösung + 1,4 ccm Wasser + 25 ccm Wasser + 1 ccm 10proz. Essigsäure 10 Minuten lang destilliert. Im Destillat A wurden 0,02 ccm n/200 Jodlösung verbraucht (entsprechend 0,001proz. Aceton). Im Anschluß an die erste Destillation wurde weitere 10 Minuten destilliert unter gleichzeitigem Zutropfenlassen von 20 ccm Kaliumbichromatschwefelsäure. Im Destillat B wurden 0,02 ccm n/200 Jodlösung verbraucht (entsprechend 0,002proz. β-Oxybuttersäure). Mithin wurde bei der Destillation einer 0,25proz. Glucoselösung nur eine solche Jodbindung erzeugt, wie sie innerhalb der Fehlergrenze der Methode liegt.

Mit besonderem Nachdruck kritisiert *Engfeldt* die Frage der mit meiner Methode erzielten *β-Oxybuttersäureausbeute* und bemängelt dabei, daß ich bei Verwendung des von ihm für seine Makromethode angegebenen Multiplikators 0,25 zu niedrige β-Oxybuttersäurewerte erhalten soll. Als Beleg für die Richtigkeit der von mir erhaltenen Werte habe ich eine Anzahl gut übereinstimmender Parallelanalysen nach der von *Magnus-Levy* angegebenen optischen Methode angeführt. Diese Übereinstimmung im Resultat der beiden Methoden kann sich *Engfeldt* „kaum auf andere Weise als dadurch erklären, daß *Lublin* sich gewisser konsequent durchgeführter Fehlgriffe — Beobachtungs- oder Rechenfehler — beim Gebrauch einer von beiden Methoden schuldig gemacht hat". Daß auf Grund der 18 bereits mitgeteilten und noch unten mitzuteilenden weiteren Beleganalysen die Übereinstimmung der Resultate kein Zufall sein kann, ist wohl ohne jede Kommentierung eindeutig. Hätte *Engfeldt* gleichlautende Parallelanalysen angestellt, was zur objektiven Kritik nicht unwesentlich gewesen wäre, so hätte auch er sich von dieser Tatsache überzeugen können. Im übrigen sind die nach der Methode von *Magnus-Levy* ermittelten β-Oxybuttersäurewerte, wie *Embden* und *Schmitz* im Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von *Abderhalden* mitteilen, häufig bis zu 10 Proz. zu hoch, während *Engfeldt* meine Werte für zu niedrig hält. Des weiteren wäre wichtig gewesen, wenn *Engfeldt* die von mir angegebene Analysenvorschrift befolgt hätte: Auf S. 561 seiner Arbeit gibt *Engfeldt* an, er hätte eine bestimmte Menge β-oxybuttersauren Calciumzinksalzes mit 25 ccm Wasser und 1 ccm Essigsäure destilliert. Es liegt auf der Hand, daß unter diesen Bedingungen die Kaliumbichromatschwefelsäure in schwächerer Konzentration auf die β-Oxybuttersäure einwirken wird, als wenn von den 26 ccm Ausgangsflüssigkeit bei der Destillation A bereits ein mehr oder weniger großer Teil überdestilliert ist. Statt dessen führte *Engfeldt* eine Anzahl Analysen unter Bedingungen aus (Tabelle I seiner Arbeit), die den von mir angegebenen nicht genau ent-

---

[1]) Auch *Händel* hat jüngst darauf hingewiesen (diese Zeitschr. **144**, **261**).

sprachen. **Als Resultat seiner zahlreichen Untersuchungen teilt Engfeldt schließlich mit, daß er mit meiner Methode 55 Proz., mit seiner Methode „Modifikation VII“ 58,2 Proz. der theoretischen Ausbeute erzielen konnte.** Diesem Gewinn von 3,2proz. β-Oxybuttersäure steht der durch Adsorption infolge der Glucosefällung bei der *Engfeldt*schen Methode bedingte Verlust von 3,2 Proz. (Acetessigsäure-) Aceton gegenüber, der bei meiner Methode, wie *Engfeldt* selbst berichtet, fortfällt. Wie ich unten an der Hand einiger Beleganalysen zeigen werde, scheint übrigens der Acetonverlust bei der *Engfeldt*schen Methode weit über 3 Proz. zu betragen, da nach *Engfeldt* namentlich das freie Aceton der Adsorption anheimfällt und *Engfeldts* Angaben sich nicht auf die Destillation von Harn, sondern einer reinen Acetessigsäurelösung beziehen. Ein Teil des bei Anwendung des neuen *Engfeldt*schen Verfahrens zu beobachtenden Acetonverlustes ist aber ohne Zweifel auch dadurch verursacht, daß die Abflußröhre des Kühlers nicht in die Hypojoditlösung hineinragt, sondern sich zum Schutz gegen das eventuelle — bei einiger Übung leicht vermeidbare — Übersteigen in einiger Entfernung über dem Flüssigkeitsniveau der Vorlage befinden soll. Die von *Engfeldt* angegebene Distanz von einem Zentimeter ist aber sicher zu gering, wie ich aus eigener Erfahrung berichten kann, da nach 10 Minuten langer „kräftiger“ Destillation so viel Flüssigkeit überdestilliert ist, daß in einem Erlenmeyerkolben von 150 bis 200 ccm Inhalt das Ende der Kühlerabflußröhre von dem Flüssigkeitsspiegel bereits erreicht ist. Je mehr Destillationen man aber ausgeführt hat und je wärmer infolgedessen die die Vorlage umgebende Luftschicht geworden ist, um so mehr Aceton entweicht, bevor das Destillat in die Vorlage hineintropft, was sich deutlich in den unten angeführten Beleganalysen daran erkennen läßt, daß die Acetonverluste von einer Analyse zur anderen steigen (vgl. Tabelle II, Reihe a).

Um das bei Gebrauch seiner Methode zu verzeichnende Defizit an β-Oxybuttersäureausbeute auszugleichen, hat *Engfeldt* sich entschlossen, den ursprünglich von ihm sorgfältig errechneten und angegebenen Multiplikator 0,25 auf 0,28 und (in der gleichen Arbeit!) 0,3 zu erhöhen. Damit scheint aber *Engfeldt* eine „Überkorrektur“ vorgenommen zu haben, denn die unter Anwendung des Faktors 0,3 von mir errechneten β-Oxybuttersäurewerte scheinen meist erheblich höher zu liegen als die nach der Methode von *Magnus-Levy* ermittelten Kontrollwerte, die, wie bereits erwähnt, als etwa 10 Proz. zu hoch anzunehmen sind. Im folgenden teile ich zunächst die Resultate einiger Parallelanalysen mit; als Kontrollmethode für die Acetonbestimmung diente mir wiederum das Makroverfahren nach *Embden-Schmitz*, für die β-Oxybuttersäure die optische Methode nach *Magnus-Levy:*

*Tabelle I.*

| Datum | Aceton | | β-Oxybuttersäure | |
|---|---|---|---|---|
| | *Lublin* Proz. | *Embden-Schmitz* Proz. | *Lublin* Proz. | *Magnus-Levy* Proz. |
| 30. VI. 1922 | 0,021 | — | 0,126 | 0,118 |
| 15. VII. | 0,102 | 0,100 | 0,327 | — |
| 6. II. 1923 | 0,112 | — | 0,906 | 0,883 |
| 7. II. | 0,172 | 0,172 | 0,906 | — |
| 23. III. | 0,122 | 0,123 | 0,605 | — |



In der folgenden Tabelle sind die Resultate von Parallelbestimmungen mit meiner Methode, der neuen *Engfeldt*schen Methode „Modifikation VII“ und der Makromethode nach *Magnus-Levy* verzeichnet. Dem von seiten *Engfeldts* zu erwartenden Einwand, ich hätte mich nicht genügend in seine „Modifikation VII“ eingearbeitet, begegne ich mit der Begründung, daß es eines „Einarbeitens“ nicht bedurfte, da sich die von ihm in seiner letzten Arbeit angegebene und abgebildete Apparatur kaum von der in meiner 1922 erschienenen Arbeit abgebildeten und beschriebenen (S. 640) unterscheidet.

*Tabelle II.*

| | Reihe a | | Reihe b | | Reihe c | | Reihe d | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Aceton<br>Proz. | β-Oxybuttersäure<br>Proz. | Aceton<br>Proz. | β-Oxybuttersäure<br>Proz. | Aceton<br>Proz. | β-Oxybuttersäure<br>Proz | Aceton<br>Proz. | β-Oxybuttersäure<br>Proz. |
| *Lublin* . . | 0,086 | 0,475 | 0,047<br>0,048 } 0,048<br>0,048 | 0,255<br>0,238 } 0,246<br>0,247 | 0,102 | 0,756 | 0,075 | 0,218 |
| *Magnus-Levy* . | — | 0,476 | — | 0,331 | — | 0,859 | — | 0,228 |
| *Engfeldt VII* | 0,063 | 0,519 | 0,042<br>0,026 } 0,029<br>0,020 ? | 0,273<br>0,290 } 0,281<br>0,282 | 0,099 | 0,736 | 0,061 | 0,279 |

Soweit es sich der Arbeit *Engfeldts* entnehmen läßt, hat *Engfeldt* eine Nachprüfung der von mir angegebenen Mikromethode für *Blut*untersuchungen nicht für notwendig befunden. Trotzdem spricht er auch dieser Methode „das Maß an Präzision ab, das eine quantitative Untersuchungsmethode auszeichnen soll“. In meiner oben zitierten Arbeit habe ich eine Anzahl Tabellen und Kurven wiedergegeben, aus denen der Empfindlichkeitsgrad dieser Methode hervorgeht. Nebenbei möchte ich bemerken, daß ich beim Studium der im Blut zu beobachtenden Aceton- und β-Oxybuttersäurewerte mit meiner Methode zu Resultaten gelangt bin, die den von *Engfeldt* mit seiner Blutmakromethode gewonnenen entsprechen.

*Zusammenfassend darf ich sagen, daß die Einwände Engfeldts gegen die von mir ausgearbeiteten Mikromethoden nicht stichhaltig sind: Wenn Engfeldt gefunden zu haben glaubt, daß mit meiner Methode 3,2 Proz. weniger β-Oxybuttersäure ausgebeutet werden als mit seiner Methode, so konnte ich andererseits nachweisen, daß durch den Entzuckerungsprozeß bei der Engfeldtschen Methode mehr als 3,2 Proz. Acetonverlust entstehen; aus diesem Grunde beeinträchtigt der Prozeß der Entzuckerung das Analysenresultat beträchtlich.* **Deshalb besteht ein Grund mehr dafür, den Entzuckerungsprozeß fortzulassen, zumal da ich auch nachweisen konnte, daß der durch den Zuckergehalt des Harns bedingte Jodbindungsfehler innerhalb der Fehlergrenze der vergleichenden Makromethoden liegt.** *Während Engfeldt sich schließlich entschlossen hat, den Multiplikator zur Berechnung der β-Oxybuttersäure von 0,25 auf 0,3 heraufzusetzen, gelang es mir, auf Grund neuerer Untersuchungen die Begründung dafür zu sichern, daß ich an dem seinerzeit von mir angegebenen Faktor 0,25 festhalten darf.*

# Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. X.

Von

E. Freudenberg und P. György.

(Aus der Marburger und der Heidelberger Kinderklinik.)

*(Eingegangen am 6. April 1924.)*

Unter dem obigen Titel nimmt *R. Ed. Liesegang* zu der von uns aufgestellten Verkalkungstheorie Stellung. Er meint, die mitgeteilten Beobachtungen ließen sich auch in einfacher Weise als Ergebnisse von Diffusion und chemischer Reaktion im gelatinösen Medium erklären, ohne daß man eine chemische Bindung von Ca-Ionen aus der Lösung an die Knorpeleiweißkörper annehmen müsse. Ohne auf eine ganze Reihe von Gründen einzugehen, die wir für diese Auffassung vorgebracht haben, wendet sich *Liesegang* hauptsächlich gegen unseren Versuch, in dem wir zeigten, daß Behandeln des Knorpels mit einer Calciumlösung, Abspülen und Nachbehandeln mit Phosphatlösung eine starke Anreicherung mit Phosphat bedingt, die Umkehrung der Reihenfolge (zuerst Phosphat, dann Calciumlösung) aber nicht. Er behauptet, wir würden auch im zweiten Falle ein positives Ergebnis erzielt haben, wenn wir die Calciumlösung molar stärker konzentriert als die Phosphatlösung gewählt hätten. Wir haben, um diesen Einwand nachzuprüfen, nochmals entsprechende Versuche angestellt. Knorpelgewebe wurde in Phosphatlösung suspendiert, gewaschen und mit gleichstarken und stärkeren Kalklösungen nachbehandelt. Umgekehrt wurde Knorpelgewebe in einer Kalksalzlösung suspendiert, genau entsprechend gewaschen und mit gleichstarken und schwächeren Phosphatlösungen nachbehandelt. Sind die Vorstellungen *Liesegangs* richtig, so müßte im ersten Falle eine starke Anreicherung an Ca und P im Gewebe nachweisbar werden. Im zweiten Falle dürfte dies, wenigstens für P, nicht der Fall sein. Die Versuche ergeben aber ein ganz anderes Resultat.

*Versuch 1.* Knorpel sorgfältig aus Kalbsrippen rein präpariert, in dünnsten Scheiben vorsichtig getrocknet. Etwa 10 g in 100 ccm m/5 Lösung von $Na_2HPO_4$ 24 Stunden unter häufigem Schütteln aufbewahrt, sodann Lösung abgegossen, Gewebe in Glastrichter mit Watte verschlossenem Abfluß mit 500 ccm Wasser gewaschen, sodann wieder getrocknet. Je 2 g kommen in 20 ccm m/3 und m/1 $CaCl_2$-Lösung. Nach 24 Stunden mit je 150 ccm Wasser wie angegeben gewaschen, zur Konstanz getrocknet, auf Ca und P analysiert.

| | mg Ca | mg P pro g Trockensubstanz |
|---|---|---|
| Knorpel unbehandelt | 1,4 | 1,1 |
| Knorpel mit m/3 Phosphat behandelt | 1,4 | 2,6 |
| Knorpel mit m/3 Phosphat und m/3 $CaCl_2$ behandelt | 8,4 | 2,4 |
| Knorpel mit m/3 Phosphat und m/1 $CaCl_2$ behandelt | 11,6 | 2,5 |

Ergebnis: nur ganz geringfügige P-Anreicherung, Ca-Anreicherung unabhängig von dieser gemäß der Konzentration der Calciumlösung.

*Versuch 2.* 10 g Trockenknorpel (anderer Herkunft) in 100 ccm m/1 $CaCl_2$ 24 Stunden, dann wie oben mit 500 ccm Wasser gewaschen, getrocknet. Je 2 g Trockenknorpel in 20 ccm m/10 und m/3 sekundärer Phosphatlösung 24 Stunden versenkt, dann mit je 150 ccm Wasser wie angegeben gewaschen, getrocknet, analysiert.

| | mg Ca | mg P pro g Trockensubstanz |
|---|---|---|
| Knorpel unbehandelt | 1,6 | 1,7 |
| Knorpel mit m/1 $CaCl_2$ behandelt | 12,2 | 1,7 |
| Knorpel mit m/1 $CaCl_2$ und m/10 sek. Phosphat behandelt | 11,6 | 8,2 |
| Knorpel mit m/1 $CaCl_2$ und m/3 sek. Phosphat behandelt | 11,8 | 13,1 |

Ergebnis: starke P-Anreicherung nach Ca-Vorbehandlung des Gewebes trotz sehr viel schwächerer Konzentration der angewendeten Phosphat- im Vergleich zur Kalklösung.

*Folgerung:* Unsere Versuche sind nur unter der Annahme einer Ca-Bindung im Gewebe verständlich, nicht auf Grund von Vorstellungen über Diffusion in Gelen nach *Liesegang*. Das Ca-angereicherte Gewebe fixiert P. Weil aber bei der in den Versuchen vorhandenen Reaktion eine Bindung von Phosphationen an die Gewebsampholyte nicht in Frage kommt, ist eine P-Anreicherung ohne vorhergehende Ca-Bindung unmöglich.

Wir haben nun noch Stellung zu nehmen zu der Auffassung von *Liesegang*, daß das Überwiegen der Phosphate über die Carbonate im Knochen daher rühre, daß beim Übergang von sekundärem in tertiäres Phosphat Säure abgespalten wird. Unsere Versuche hatten gezeigt, daß bei der Dialyse verschiedenartiger mit $CaCl_2$ versetzter Eiweißlösungen gegen Bicarbonat enthaltende Lösungen dieses sich stark vermindert. Wir setzten dies mit dem längst bekannten Verhalten des Caseins gegen Bicarbonat in Parallele. Solche Wirkungen müssen bei der Gewebsverkalkung berücksichtigt werden. Es ist aber möglich, daß den Vorgängen, auf die *Liesegang* hinweist, auch eine Bedeutung zukommt, welche übrigens einer experimentellen Überprüfung durchaus zugänglich wäre.

# Die Verkettungsreaktion der Amide von α-Oxysäuren.

Von

**A. Schmuck.**

(Aus dem landwirtschaftlichen Institut zu Krasnodar, Rußland.)

*(Eingegangen am 7. März 1924.)*

Bei der Untersuchung der gegenseitigen Wirkung des Sauerstoffs der zyklischen Verbindungen — hauptsächlich derjenigen, die von biologischer Bedeutung sind — mit Ammoniak[1]) wurde meine Aufmerksamkeit auf die Beziehungen zwischen Ammoniak und den Anhydridderivaten der α-Oxysäuren gelenkt. Wie bekannt, bilden die α-Oxysäuren leicht Sauerstoffanhydride mit offener Kette und auch ringförmig geschlossener Struktur: so gibt die Glykolsäure ein Anhydrid $C_4H_6O_5$ ($= 2\,C_2H_4O_3 - H_2O$), bildet aber auch Glykolid $C_4H_4O_4$, durch Entziehen von 2 Teilen Wasser aus 2 Teilen Glykolsäure:

```
CH2—O—CO
|       |
CO——O—CH2
```

Analog gibt Milchsäure die Lactil-Milchsäure $CH_3CH(OH)CO$ $.\,CH(CH_3)COOH$ und ein zyklisches Anhydrid

```
CH3.CH—O—CO
    |      |
    CO—O—CH.CH3
```

Wenn in diesen zyklischen Anhydriden der verbindende Sauerstoff durch die Gruppe —NH— ersetzt wird (die vielfach befähigt ist, ähnlichen Sauerstoff zu ersetzen), so erhält man Stickstoffanhydride, die von *Curtius* entdeckt, in der Eiweißstoffchemie als Diketopiperazine gut bekannte Anhydride der Aminosäuren darstellen.

```
CH2—NH—CO          CH3—CH—NH—CO
|       |              |      |
CO—NH—CH2              CO—NH—CH—CH3
```

Zwischen diesen Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen ist die Analogie der Struktur leicht ersichtlich.

Vom biologischen Standpunkte aus ist diese Analogie von besonderer Bedeutung, da derartige Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen

[1]) *A. Schmuck*, Reaktionen der gegenseitigen Einwirkung zwischen dem Sauerstoff der zyklischen Verbindungen und $NH_3$. (Im Druck.)

den beiden biologischen Hauptgruppen: den Kohlehydraten und Eiweißstoffen entsprechend nahestehen. Milchsäure steht in unmittelbarer Beziehung zur Glucose und kann aus dieser auf chemischem, sowie auch auf biologischem Wege leicht erhalten werden. Glykolsäure bildet sich bei der Oxydation vieler Hexosen, z. B. Fructose, Galaktose.

Bei der Einwirkung von Alkalien auf Glucose zerfällt letztere, und es bilden sich bedeutende Mengen Milchsäure[1]). Endlich wird Glucose auch von Organismen durch entsprechende Fermente leicht in Milchsäure vergoren. Andererseits stellen die Diketopiperazine Anhydride direkter Elemente der Eiweißstoffketten dar und geben bei ihrer Hydrolyse einfache Dipeptide.

Wenn man also den Übergang vom Sauerstoffanhydrid der $\alpha$-Oxysäuren zum Stickstoffanhydrid der $\alpha$-Aminosäuren verwirklichen könnte, so wäre hier die biologische Verbindung zwischen den zwei Gruppen, den Kohlehydraten und Eiweißstoffen, hergestellt.

Kohlehydrate ⟶ Oxysäuren ⟶ Anhydride derselben
↓ $NH_3$
Anhydride der Aminosäuren → Dipeptide → Eiweißstoffe.

Das Ausgangsmaterial dieser Umwandlungen: Kohlehydrate und $NH_3$, sind beständige Elemente eines jeden biologischen pflanzlichen Prozesses, und von diesem Standpunkte aus ist die Untersuchung derartiger Möglichkeiten von großem Interesse. Bedeutsam ist aber nicht nur, volle Anhydride, wie Diketopiperazine, aus den Amiden der $\alpha$-Oxysäuren zu erhalten, sondern auch die Bildung unvollständiger Anhydride, die der Ausscheidung geringerer Wassermengen nach der Formel $m\,(C_nH_{2n}O_3) - (m-1)\,H_2O$ entsprechen; hierbei erhält man zwar keine zyklischen Verbindungen, aber diese Stickstoffverbindungen mit offener Kette sind ebenfalls den Eiweißstoffketten analog.

Z. B. für Glykolamid:

$$\begin{array}{l} CH.(OH)CONH\boxed{H} \\ \qquad\qquad CH\boxed{OH}.CONH_2. \end{array}$$

Wie weiter unten ersichtlich, erhält man derartige Produkte sehr leicht, und mittels dieser Reaktionen ist die Gewinnung langer Ketten von Amiden verschiedener Oxysäuren entschieden möglich.

Die Anhydride der $\alpha$-Oxysäuren sind leicht zu gewinnen durch das bloße Erwärmen über deren Schmelzpunkt. Die Bildung derselben kann auf zweierlei Arten geschehen, entweder

$$\begin{array}{l} CH_2O\boxed{H\quad HO}OC \\ | \qquad\qquad\quad / \\ CO\boxed{OH\quad H}OCH_2 \end{array} \text{ (I) oder } \begin{array}{l} CH_2\boxed{OH\quad H}OOC \\ | \qquad\qquad\quad / \\ COO\boxed{H\quad HO}CH_2 \end{array} \text{ (II)}$$

---

[1]) *Kiliani*, Ber. **15**, 136.

Das Endprodukt beider Typen von Reaktionen ist vollständig gleich in beiden Fällen, dennoch ist dieser Umstand nicht ohne Bedeutung. Diketopiperazine bilden sich aus den entsprechenden α-Aminosäuren ebenfalls verhältnismäßig leicht, besonders dann, wenn die Carboxylgruppe in Esterform gebunden ist[1]). In diesem Falle können die Wasserelemente nur nach Schema (I) ausgeschieden werden:

$$\begin{array}{l} CH_2NH\boxed{H\quad HO}OC \\ |\qquad\qquad\qquad\quad / \\ CO\boxed{OH\quad H}HNCH_2 \end{array}$$

Die Bildung des Lactids aus Milchsäure geschieht wahrscheinlich nach demselben Schema, d. h. auf Kosten des Hydroxyls der Carboxyl- und des Wasserstoffs der Hydroxylgruppe.

Viele zyklische Sauerstoffverbindungen geben Stickstoffverbindungen, in denen letzterer der Gruppe —NH— analog ist, wie aber unsere Untersuchungen gezeigt haben, ist Sauerstoff nur sehr selten durch diese Gruppe bei direkter Einwirkung von Ammoniak zu ersetzen. Man kann als allgemeine Regel bei ähnlichen Reaktionen annehmen, daß der Ring bei Einwirkung von $NH_3$ auf zyklische Sauerstoffverbindungen unter entsprechenden Bedingungen zerreißt, und eine offene Kette entsteht durch Verbindung mit $NH_3$. Erst im weiteren schließt sich der Ring wieder bei Ausscheidung von Wasser, z. B.

$$\begin{array}{l} CH_2.CO \\ | \\ CH_2.CO \end{array}\!\!>O + NH_3 = \begin{array}{l} CH_2CONH_2 \\ | \\ CH_2CONH_2 \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2CO \\ | \\ CH_2CO \end{array}\!\!>NH + H_2O.$$

Diese Regel gilt auch für die Anhydride der α-Oxysäuren, die mit $NH_3$ auf folgende Weise reagieren:

$$\begin{array}{l} CH_3CH—O—CO \\ \quad\;\, | \qquad\quad\;\; | \\ \quad\;\, CO—O—CHCH_3 \end{array} + 2NH_3 = 2CH_3CHOHCONH_2.$$

Es entstehen also Amide der α-Oxysäuren.

Unsere Aufgabe besteht also darin, die Möglichkeit einer Wiedervereinigung dieser Amide entweder in einen stickstoffhaltigen Ring oder in Anhydride mit unvollständiger Wasserausscheidung zu untersuchen.

Diese Amide können das Wasser nur auf eine einzige Art und Weise abgeben, und zwar entgegengesetzt derjenigen der Aminosäuren, d. h. nur durch Abspaltung des Alkoholhydroxyls. Unsere Versuche in dieser Beziehung bestätigten die schwierige Verwirklichung dieser Reaktion. Bei direkter Erwärmung der Amide beobachteten wir meistens Abspaltung des $NH_3$ und Regeneration der Sauerstoffringe.

Alle diese Versuche haben wir mit dem Amid der Milchsäure und einige mit dem Amid der Glykolsäure ausgeführt.

---

[1]) *E. Fischer*, Ber. 16, 753.

Die Ausgangsprodukte wurden auf folgende Weise hergestellt: Das Amid der Milchsäure: 300 g Milchsäure wurden auf einem Ölbade im Laufe vieler Tage bis 160° erwärmt, wobei ein trockener Luftstrom beständig durch die Flüssigkeit geleitet wurde. Die erhaltene Substanz — das Lactid der Milchsäure — wurde in Alkohol gelöst und die Lösung mit $NH_3$-Gas gesättigt. Am folgenden Tage, nach dem Verjagen des Alkohols, trat eine starke Kristallisation des Amids ein. Die Substanz wurde darauf aus Alkohol und noch besser aus Essigester umkristallisiert und in glänzenden Blättchen erhalten mit dem Schmelzpunkt 73,5° (für das Amid ist F. 74° bekannt). Das Amid der Glykolsäure: Die aus Monochloressigsäure durch Kochen mit Marmor erhaltene Glykolsäure wurde durch längeres Kochen mit 1 proz. Chlorwasserstofflösung in Alkohol in ihren Äthylester übergeführt. Nach dem Verjagen des größten Teiles des freigebliebenen Alkohols wurde der Ester durch $NH_3$-Gas zerlegt. Die ausgeschiedene kristalline Substanz wies nach mehrfachem Umkristallisieren aus Alkohol und endlich aus Essigester einen Schmelzpunkt bei 120° (bekannt 120°) auf.

*Versuch 1.* 5 g Lactamid wurden in einer Einschmelzröhre 24 Stunden bei 180° erwärmt [der Bildung des Diketopiperazins aus Alaninester analoge Bedingungen[1])]. Beim Öffnen des Rohres war fast kein Druck bemerkbar und die Substanz leicht gelblich geworden. Nach dem Umkristallisieren aus Alkohol wurden typische Kristalle des Lactamids erhalten mit dem Schmelzpunkt 71°. Gehalt an Stickstoff 15,40 Proz. 0,2000 g Substanz; 22 ccm n/10 $H_2SO_4$ (*Kjeldahl*).

Der Gehalt an Stickstoff ist nicht größer geworden, was man annehmen dürfte, wenn Wasser ausgeschieden wäre (Lactamid enthält 15,73 Proz. Stickstoff). Es ist sogar noch ein geringer Verlust eingetreten, woraus man schließen muß, daß unter den oben beschriebenen Bedingungen das Lactamid zum größten Teil unverändert bleibt.

*Versuch 2.* 3 g Lactamid wurden in einer Röhre bei 200 bis 220° erwärmt. Im Rohr war ein bedeutender Druck vorhanden; an den Wänden fand sich ein Anlauf, der aus kohlensaurem Ammonium bestand. Die ziemlich braun gewordene Substanz wurde mit Alkohol aufgenommen und enthielt 12,9 Proz. N, 0,1240 g Substanz, 11,5 ccm n/10 $H_2SO_4$.

Es zeigt sich also ein bedeutender Verlust an Stickstoff, was auch an dem deutlichen Ammoniakgeruch im Rohre wahrgenommen werden konnte. Aber auch bei diesem Versuch blieb ein Teil des Lactamids unverändert, worauf der Schmelzpunkt und die Löslichkeit des Produkts in heißem Essigester hinwiesen.

Folglich ist das Endprodukt der Reaktion ein Gemisch von unverändertem Lactamid und einer stickstofffreien Substanz.

*Versuch 3.* 3 g Lactamid wurden in einer Röhre bei 240 bis 260° erwärmt. Die Substanz wurde schwarz, die Abscheidung von kohlensaurem Ammoniak war bedeutend und der Druck im Rohre stark. Von unverändertem Lactamid war wenig zurückgeblieben. Das aus dem Reaktionsprodukt mit Essigester aufgenommene Lactamid enthielt 10,00 Proz. N, was auf beträchtliche Ausscheidung von $NH_3$ deutet.

0,2128 g Substanz; 15,2 ccm n/10 $H_2SO_4$.

Diese Versuche zeigten, daß die Ausscheidung von Wasser und das Erhalten eines N-haltigen Anhydrids durch bloßes Erwärmen in Röhren

[1]) *E. Fischer*, Ber. 34, 433, 1905.

undurchführbar ist, da die Reaktion unter Ausscheidung von $NH_3$ verläuft. Die verhältnismäßig leichte Abtrennung des $NH_3$ von den Amiden war hiermit bewiesen, infolgedessen mußten die weiteren Versuche, ein Anhydrid zu erhalten, so angestellt werden, daß eine Abspaltung von $NH_3$ vermieden wurde.

*Versuch 4.* Eine geringe Menge Lactamid wurde in einem Probiergläschen bei 200° 2 Stunden erwärmt und gleichzeitig ein Strom trockenen Ammoniakgases hindurchgeleitet. Deutliche Wasserausscheidung war bemerkbar. Das erhaltene Produkt wurde in heißem Alkohol gelöst und kristallisiert.

Gehalt an N 16,9 Proz.; 0,1440 g Substanz; 17,4 ccm n/10 $H_2SO_4$.

Nach Behandlung mit Essigester und Umkristallisieren des Restes aus Alkohol enthielt die bei 105° getrocknete Substanz 17,4 Proz. N.

0,1020 g Substanz; 12,7 ccm n/10 $H_2SO_4$.

Es erwies sich demnach deutliche Wasserausscheidung und Erhöhung des Stickstoffgehaltes im Reaktionsprodukt.

*Versuch 5.* 5 g Lactamid wurden im Ammoniakgasstrom auf einem Ölbade erwärmt. Bei 160 bis 170° war starke Wasserausscheidung bemerkbar. Eine weitere Ausscheidung erfolgte bei 220°. Das stark harzige Produkt wurde in Alkohol gelöst, mit Tierkohle gekocht und mit absolutem Äther gefällt. Der hellbraune Niederschlag wurde aus heißem Alkohol umkristallisiert. Schmelzpunkt nicht deutlich, aber bei 240° sichtbare Veränderung der Substanz.

Stickstoffgehalt 19,68 Proz.; 0,0505 g Substanz; 7,1 ccm n/10 $H_2SO_4$; Elementaranalyse 0,0643 g Substanz; 0,1210 g $CO_2$; 0,0425 g $H_2O$.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_6H_{10}N_2O_2$. | Berechnet . . . . . | C 50,70 | H 7,04 | N 19,72 |
| | Gefunden . . . . . | 51,30 | 7,30 | 19,68 |

Das in sehr geringer Ausbeute erhaltene Produkt hat folgende Eigenschaften: Schwer löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther. Beim Kochen wässeriger Lösungen bildet sich leicht Schaum. Reaktion neutral, Geschmack bitter. $NH_3$ wird nicht abgespalten, selbst nicht bei Erwärmung mit Alkalien. Trotz der großen Ähnlichkeit der Substanz mit dem Diketopiperazin des Alanins der elementaren Zusammensetzung nach sind wir doch davon überzeugt, daß ihre molekulare Struktur eine andere ist. Dieser Substanz fehlen nämlich folgende Eigenschaften des Diketopiperazins: die kristalline Form, Schmelzpunkt, und das Verhalten gegenüber Alkalien. Bei der Einwirkung von Alkalien auf das Diketopiperazin des Alanins wird dasselbe gespalten unter Bildung von Alanyl-Alanin, oft entsteht vorher noch ein schwer lösliches Natriumsalz. Diese Reaktionen waren für unsere Substanz nicht zu beobachten.

Das Diketopiperazin wird aus 2 Teilen Aminosäure unter Ausscheidung von 2 Teilen Wasser gebildet. Die Bildung der Anhydride aus den Amiden der Oxysäuren geschieht jedoch auf folgende Weise:

1. $m\,(C_nH_{2n}O_3) - m\,H_2O = m\,(C_nH_{2n-2}O_2)$,
2. $m\,(C_nH_{2n}O_3) - (m - 1)H_2O$.

Nach dem ersten Reaktionstypus müssen wir aus dem Amid der Milchsäure eine Substanz erhalten, die der unserigen der chemischen Zusammensetzung nach ganz nahe steht, es folgt aber nicht daraus, daß bei der Bildung nur 2 Mol. des Amids teilnahmen. Eine ähnlich aufgebaute Substanz

erhält man auch nach dem zweiten Typus, wenn „*m*“ groß ist. Die Steigerung des N-Gehaltes bei Vergrößerung von „*m*“ zeigt folgende Tabelle:

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Aus | 2 | Teilen | scheidet | 1 | Teil | Wasser | 17,5 | Proz. | N | aus |
| „ | 3 | „ | scheiden | 2 | Teile | „ | 18,0 | „ | N | „ |
| „ | 4 | „ | „ | 3 | „ | „ | 18,54 | „ | N | „ |
| „ | 5 | „ | „ | 4 | „ | „ | 18,74 | „ | N | „ |
| „ | 6 | „ | „ | 5 | „ | „ | 18,91 | „ | N | „ |
| „ | 7 | „ | „ | 6 | „ | „ | 19,03 | „ | N | „ |
| „ | 8 | „ | „ | 7 | „ | „ | 19,11 | „ | N | „ |
| „ | 9 | „ | „ | 8 | „ | „ | 19,17 | „ | N | „ |
| „ | 10 | „ | „ | 9 | „ | „ | 19,23 | „ | N | „ |
| „ | 15 | „ | „ | 14 | „ | „ | 19,38 | „ | N | „ |

In dieser Richtung ändert sich auch der Gehalt an Kohlenstoff. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Anhydride um so verschiedener voneinander sind, je weniger Moleküle an ihrem Aufbau teilgenommen haben, dagegen stehen aus vielen Teilen zusammengesetzte Anhydride dem elementaren Gehalte nach nahe zueinander sowie auch zu den Anhydriden, die nach dem ersten Reaktionsschema erhalten worden sind. Wir müssen daher annehmen, daß die erhaltene Substanz komplizierter Natur und aus vielen Teilen Lactamid gebildet (nicht weniger als 15) ist.

Die äußeren Eigenschaften und einige Merkmale weisen darauf hin, daß das Molekulargewicht hoch und nach folgendem Schema gebildet sein muß:

$$\begin{array}{l} CH_3CHOH.CONH|\overline{H}| \\ \qquad\qquad\quad CH_3CH|\underline{OH}|CONH_2. \end{array}$$

Dieses Amid reagiert mit einem neuen Teilchen, und auf solche Art bilden sich hochmolekulare Substanzen. Diese Erwägungen veranlaßten uns, die Bedingungen für die Bildung dieser Verbindungen so zu mildern, daß die Reaktion nicht so weit geht und die Substanzen einfacher bleiben. Schon beim vierten Versuch erhielten wir eine Substanz mit 17,4 Proz. N, d. h. einem Derivat aus 2 Teilen Lactamid mit Ausscheidung von 1 Teil Wasser nahestehend.

*Versuch 6.* Lactamid wurde unter den Bedingungen des fünften Versuchs erwärmt, aber nicht höher als 160 bis 165°. Die Substanz wurde in Alkohol gelöst, kristallisiert und mehrfach mit kochendem Essigester zur Entfernung des frei gebliebenen Lactamids behandelt. Der Rest wurde wieder in Alkohol gelöst, mit Tierkohle entfärbt und kristallisiert. Nach abermaligem Umkristallisieren aus Alkohol ergab die Analyse folgende Resultate:

0,3587 g Substanz; 45,2 ccm n/10 $H_2SO_4$; 17,64 Proz. N. 0,3779 g Substanz; 48,0 ccm n/10 $H_2SO_4$; 17,80 Proz. N. 0,1543 g Substanz; 0,2540 g $CO_2$; 0,1067 g $H_2O$.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_6H_{12}O_3N_2$. | Berechnet . . . | C 45,00 | H 7,50 | N 17,50 |
| | Gefunden . . . | 44,88 | 7,73 | 17,72 |

Zur Bestimmung des Stickstoffs in Amidform wurde die Substanz in einem Kolben am Rückflußkühler 1½ Stunden mit 3proz. HCl gekocht. Der Inhalt wurde mit Ätznatron bis zu schwach saurer Reaktion neutralisiert, ein Überschuß von Magnesium hinzugefügt und das $NH_3$ in titrierte $H_2SO_4$ überdestilliert.

0,4240 g Substanz; 27,2 ccm n/10 $H_2SO_4$; 8,9 Proz. N.

Berechnet Amidstickstoff für $C_6H_{12}O_3N_2$ 8,77 Proz. N.

Die Substanz ist in Wasser leicht löslich, sehr bitter, Schmelzpunkt 52°.

*Versuch 7.* Bedingungen wie bei Versuch 6, nur Darstellung nicht aus Lactamid, sondern aus Lactid durch direktes Erwärmen im Ammoniakstrom. Schmelzpunkt 52°.

0,1490 g Substanz; 18,6 ccm n/10 $H_2SO_4$; 17,47 Proz. N. 0,1319 g Substanz; 0,2215 g $CO_2$; 0,0870 g $H_2O$.

| | | C | H | N |
|---|---|---|---|---|
| $C_6H_{12}O_3N_2$. | Berechnet . . . | C 45,00 | H 7,50 | N 17,50 |
| | Gefunden . . . | 45,80 | 7,40 | 17,47 |

Wir sehen also, daß diese Substanz beständige Eigenschaften hat, unabhängig davon, ob wir sie aus Lactamid oder Lactid und $NH_3$ erhalten. In letzterem Falle geht die Reaktion anscheinend über Lactamid als Zwischenprodukt. Die Substanz wird durch folgende Eigenschaften charakterisiert: Sie ist kristallin und kristallisiert aus Alkohol in kleinen Täfelchen; Schmelzpunkt 52°. In Wasser und Alkohol leicht löslich; Reaktion neutral, wird jedoch in wässeriger Lösung mit der Zeit schwach basisch. Geschmack sehr bitter. Hygroskopisch, zieht an der Luft Feuchtigkeit an. Die wässerigen Lösungen bilden leicht Schaum. In absolutem Alkohol ist die Substanz schwerer löslich, gar nicht in Äther, Benzol und Ligroin. Sie wird aus wässerigen Lösungen leicht niedergeschlagen von Tannin, Phosphorwolframsäure, Pikrinsäure und Jodlösung in Jodkali (Alkaloidreaktionen der Eiweißstoffe), gut von Sublimat und salpetersaurem Quecksilberoxyd, schwach von Bleiessig und $K_4Fe(CN)_6$. Wird nicht gefällt von Säuren, Alkalien, Salzen der Erdalkalimetalle und nicht ausgesalzen. Ebenfalls fällen die Substanz nicht $FeCl_3$, essigsaures Kupfer und die Komplexsalze von Gold und Platin. Was die Farbenreaktionen der Eiweißstoffe betrifft, so ist die Biuretreaktion nicht sehr deutlich, weil die Substanz leicht gelblich gefärbt ist. Nach der charakteristischen Farbenänderung aber und dem Umstande, daß viele Amide der α-Oxysäuren — darunter auch Lactamid, wie von uns festgestellt —, die Biuretreaktion zeigen, kann man annehmen, daß sie auch hier stattfindet. Denn die Elemente des Lactamids sind erhalten geblieben und keine freie Carboxylgruppe ist gebildet worden, die nach *E. Fischer*[1]) das Eintreten der Biuretreaktion hindert. Die Hälfte des Stickstoffs ist in Amidform vorhanden, die andere mit Kohlenstoff enger verbunden. Daher kann die Substanz folgenden Bau haben:

$$\begin{array}{l} CH_3.CHOH.CONH \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\quad CH_3CH.CONH_2. \end{array}$$

Am Aufbau des Moleküls können nicht mehr als 2 Teile des Lactamids teilgenommen haben, sonst würde der Elementargehalt ein anderer sein, wie aus der angeführten Tabelle ersichtlich ist.

Wir versuchten die erhaltene Substanz zu hydrolysieren.

*Versuch 8.* Die Substanz wurde durch Kochen mit 5proz. Salzsäure im Kolben am Rückflußkühler 2 Stunden hydrolysiert. Die Lösung wurde mit Pottasche neutralisiert und durch Eindampfen konzentriert. Nach dem Abkühlen wurde sie mit schwacher Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherschicht wurde abgetrennt, der Äther verjagt und der Rückstand in einer kleinen Menge Wasser gelöst. Reaktion

[1]) *E. Fischer*, Ber. **35**, 1095, 1902.



sauer. Zur wässerigen Lösung wurde kohlensaures Zink hinzugetan, der Überschuß abfiltriert und zum Filtrat das dreifache Volumen Alkohol zugefügt. Am nächsten Tage trat Kristallisation des Zinksalzes der Milchsäure in charakteristischen Kristallen ein. $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3\,H_2O$.

Zinkgehalt: 0,1680 g Substanz; Zn 0,0372 g; 22,11 Proz. Zn.

Berechnet für $(C_3H_5O_3)_2\,Zn + 3\,H_2O$ 22,22 Proz. Zn.

Nach der Entfernung der Milchsäure wurde die Lösung wieder mit Pottasche neutralisiert, 11 g Natriumbicarbonat hinzugetan und dann in kleinen Mengen 7,2 g Benzoylchlorid. Die Flüssigkeit wurde im Laufe einer Stunde energisch geschüttelt, dann abfiltriert. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure bildete sich ein umfangreicher Niederschlag, der gewaschen und getrocknet wurde. Der zerkleinerte, trockene Niederschlag wurde zur Abtrennung der Benzoesäure wiederholt mit kochendem Ligroin bearbeitet. Der unlösliche Teil hat einen Schmelzpunkt von 160°. Razemisches Benzoylalanin 162 bis 163°[1]).

N-Gehalt: 0,0432 g Substanz; 2,1 ccm n/10 $H_2SO_4$; 6,8 Proz. N.

Berechnet für $C_{10}H_{11}NO_3$ 7,2 Proz. N.

Man kann also annehmen, daß die Substanz beim Kochen mit Säure in Milchsäure und Alanin zerfallen ist.

$$CH_3CH(OH)CONHCH(CH_3)CONH_2 \longrightarrow CH_3CH(OH)COOH + CH_3CHNH_2COOH.$$

Dies steht im Einklang mit dem Bau der Substanz und auch mit der Amidstickstoffbestimmung in Versuch 7.

*Versuch 9.* 5 g Glykolamid wurden im $NH_3$-Gasstrom 8 Stunden bei 120 bis 150° erwärmt. Das kristalline Reaktionsprodukt wurde in Alkohol gelöst, wobei ein kleiner Rest in Form einer dunkel gefärbten amorphen Substanz zurückblieb. N-Gehalt im löslichen Teil: 0,1213 g Substanz; 17,00 ccm n/10 $H_2SO_4$; 19,62 Proz. N. N-Gehalt im Rückstand: 0,0700 g Substanz; 12 ccm n/10 $H_2SO_4$; 24 Proz. N.

Auch in diesem Falle bilden sich also Substanzen mit höherem N-Gehalt als im Ausgangsprodukt. Die größte Menge desselben bleibt aber unverändert, was man an der geringen Menge Substanz mit 24 Proz. N und an der schwachen Erhöhung im Stickstoffgehalt der großen Masse sieht. Schmelzpunkt 116° (Glykolamid enthält 18,66 Proz. N, Schmelzpunkt 120°).

*Versuch 10.* Bedingungen wie bei vorigem, nur bei 200°. Der in Alkohol unlösliche Teil war bedeutend größer. Er wurde abfiltriert und mit Alkohol gewaschen. Der lösliche Teil wurde kristallisiert und mehrfach mit kochendem Äthylessigester zur Entfernung des zurückgebliebenen Glykolamids bearbeitet. Der Rest mit Tierkohle gekocht und aus Alkohol umkristallisiert.

N-Gehalt: 0,2010 g Substanz; 30 ccm n/10 $H_2SO_4$; 20,89 Proz. N.

Elementaranalyse: 0,0986 g Substanz; 0,1319 g $CO_2$; 0,0600 g $H_2O$.

| $C_4H_8O_3N_2$. | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Berechnet . . . | C 36,36 | H 6,06 | N 21,2 |
| | Gefunden . . . | 36,25 | 6,80 | 20,89 |

Die Substanz ist sehr hygroskopisch, leicht löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther. Wie die aus Lactamid erhaltene stark bitter; wird niedergeschlagen von Jodlösung in Jodkali, Tannin, Pikrinsäure, Phosphorwolframsäure u. a. wie bei Versuch 7. Die Geschwindigkeit der Fällung durch Phosphorwolframsäure ist jedoch geringer, wie die des

[1]) *E. Fischer*, Ber. 32, 2451, 1899.

entsprechenden Derivats aus Lactamid. Die Biuretreaktion positiv in dem nämlichen Grade wie beim Lactamidderivat. Schmelzpunkt 86⁰.

Die Ausbeute dieser Substanz ist aber sehr gering, viel weniger wie aus Lactamid. Die Abspaltung der Hydroxylgruppe des primären Alkohols, den das Amid der Glykolsäure darstellt, ist anscheinend schwieriger als des sekundären, des Amids der Milchsäure.

Auf Grund der Ähnlichkeit mit dem Derivat des Lactamids und in Übereinstimmung mit der Analyse sind wir geneigt, auch dieser Substanz folgende Struktur zuzuschreiben: $CH_2OHCONHCH_2CONH_2$.

Bei den Bestimmungen des in Amidform gebundenen Stickstoffs erhielten wir nicht so gute Resultate, wie für das Derivat des Lactamids.

0,2420 g Substanz; 22,8 ccm n/10 $H_2SO_4$; 13,18 Proz. N.

Berechnet für Amidstickstoff 10,60 Proz.

Die in Alkohol vollständig unlösliche Substanz, die beim Erwärmen von Glykolamid im Ammoniakgasstrom gebildet wurde, ist amorph, von dunkler Farbe, mit 24,57 Proz. N-Gehalt.

0,1037 g Substanz; 18,2 ccm n/10 $H_2SO_4$. 0,0906 g Substanz; 0,1455 g $CO_2$; 0,0480 g $H_2O$.

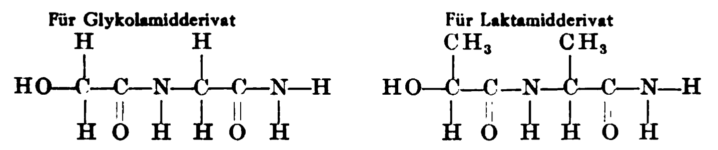
| $C_4H_6O_2N_2$. | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Berechnet . . . | C 42,1 | H 5,26 | N 24,56 |
| | Gefunden . . . | 43,7 | 5,88 | 24,57 |

Diese Substanz muß also komplizierter sein als die erste und analog derjenigen, die bei Versuch 5 erhalten wurde. Sie ist auch kein Diketopiperazin des Glycins, von welchem sie sich durch mehrere Eigenschaften unterscheidet, wie den Schmelzpunkt, kristalline Form und Unfähigkeit, unter Einwirkung von Alkalien in Glycyl-Glycin überzugehen. Wir versuchten den Gehalt an N in Amidform, wie gewöhnlich, durch Kochen mit HCl zu bestimmen. 0,2485 g Substanz, 7,4 ccm n/10 $H_2SO_4$, 3,77 Proz. N. Wie ersichtlich, ist Amidstickstoff sehr wenig enthalten. Diesen Amidstickstoff bildet nur die äußerste Endgruppe, die nicht in Reaktion mit dem Hydroxyl eines Glykolamidmoleküls getreten ist.

Die beschriebenen Versuche überzeugen uns davon, daß die Amide der α-Oxysäuren Verkettungsprodukte bilden durch Abspaltung der alkoholischen Hydroxylgruppe und des Wasserstoffs der Amidgruppe. Die Erhaltung eines vollen Anhydrids-Diketopiperazins gelingt unter diesen Bedingungen nicht.

Die erhaltenen Anhydride stehen der Struktur nach ebenfalls den Eiweißstoffen nahe. Die für Eiweißstoffe charakteristische Biuretreaktion und Alkaloidfällung findet auch hier statt.

Die Kohlenstoffkette dieser Verbindungen kann folgendermaßen dargestellt werden:




Da sie sich von *Fischers* Peptiden durch die Gegenwart einer Amid- und einer Hydroxylgruppe unterscheiden, so könnte man sie als „Ami-

dide“ oder „Oxyamidide“ bezeichnen. Man muß gestehen, daß sie dem Bau nach *Fischers* Peptiden und folglich auch dem Molekül der Eiweißstoffe nahestehen.

Die Struktur des Glycylglycins:

```
         H       H
         |       |
H—N—C—C—N—C—C—OH.
  |  |  ||  |  |  ||
  H  H  O   H  H  O
```

Die für Peptide und Eiweißstoffe charakteristische Lage des Stickstoffs zwischen zwei Kohlenstoffatomen, von denen das eine mit einem Sauerstoffatom verbunden ist, ist auch hier zu vermerken.

Wir sind geneigt, der Möglichkeit der Bildung von Amiden aus den nächsten Derivaten der Kohlehydrate und $NH_3$ eine biologische Bedeutung zuzuschreiben, denn die Bildung von Aminosäuren in Pflanzen und ihre weitere Verkettung zu Peptiden scheint uns komplizierter und unwahrscheinlicher zu sein als die Bildung von Amiden aus Oxysäuren und $NH_3$ und ihre Verkettung zu Amididen. Diese vom Standpunkte der Biologie wichtigen Fragen unterliegen einer weiteren Forschung.

Auf Grund der Resultate dieser Arbeit, die noch fortgesetzt wird, scheint es mir möglich, annehmen zu dürfen, daß aus $NH_3$ und Anhydriden der α-Oxysäuren Verbindungen entstehen können, die den einfachsten Peptiden dem Bau nach nahestehen.

# Über die Fermente der Haut.

Von

**Yoshio Yamasaki** (Mukden).

(Aus der chemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

*(Eingegangen am 12. März 1924.)*

In letzter Zeit scheint sich der Gedanke immer mehr Bahn zu brechen, daß die Haut, abgesehen von ihrer Beteiligung am Wärme-, Wasser- und Salzhaushalt, auch noch andere ganz spezifische biologische Aufgaben zu erfüllen hat, ja man geht sogar schon so weit, direkt von einer inneren Sekretion der Haut zu sprechen. Aber bisher sind noch keine Tatsachen bekannt, die zu einer solchen Schlußfolgerung berechtigen könnten, und es dürfte auch nicht so einfach sein, hierfür den direkten Beweis zu erbringen. Vorbedingung für die Annahme einer inneren Sekretion der Haut wäre zunächst einmal der Nachweis, daß die Haut einen eigenen Stoffwechsel hat, d. h. daß die Haut nicht bloß von den ihr mit dem Blute und der Lymphe zufließenden Bestandteilen in sich aufnimmt, wessen sie zum eigenen Aufbau bedarf, und das übrige unverändert wieder an den Saftstrom zurückgibt, sondern daß sie aus dem ihr Zugeführten Produkte schafft, die für sie ganz spezifisch sind. Dafür haben wir nun in der Tat bereits verschiedene Anhaltspunkte. Zunächst muß die Hautzelle ihren eigenen Bestand immer wieder ergänzen und stets wieder von neuem aufbauen, und wenn man auch gewohnt ist, diesen Vorgang als etwas ganz Selbstverständliches zu betrachten, so muß man doch zugeben, daß damit schon eine ganz spezifische Arbeitsleistung verknüpft ist. Denn ebenso wie die Leberzelle ein nur ihr eigentümliches Protoplasma, der Muskel ein nur ihm eigentümliches Zelleiweiß produziert, so kann auch die Haut nur ein für sie ganz spezifisches Eiweiß bilden. Noch deutlicher tritt ihre spezifische Arbeitsleistung zutage, wenn wir an die Produkte denken, die nur der Haut eigentümlich sind, wie die Hornzellen der Epidermis, die Haare und Nägel. Hier wird es besonders klar, daß die Haut ganz bestimmte Beziehungen zum allgemeinen Stoffwechsel haben muß; denn sie besitzt die Eigentümlichkeit, ein ganz bestimmtes Eiweißspaltprodukt, den Cystinkomplex aus dem ihr gebotenen Aufbaumaterial zum mindesten herauszulösen und für ihre Zwecke nutzbar zu machen. Nur noch ein Organ teilt mit ihr diese Eigenschaft, aber

lange nicht in dem Umfange, nämlich die Leber, indem sie den Cystinkomplex umwandelt zu Taurin, das dann als Taurocholsäure in der Galle erscheint (*v. Bergmann*, *Wohlgemuth*).

Hiernach ist die Annahme durchaus berechtigt, daß ebenso wie die Zellen der einzelnen Organe auch die Zellen der Haut ihren ganz spezifischen Stoffwechsel haben müssen. Im Hinblick darauf folgte ich gerne der Aufforderung von Herrn Prof. *Wohlgemuth*, einmal festzustellen, wieweit die Haut über eigene Fermente verfügt und in welchen Quantitäten sie sich in ihr vorfinden.

Über diesen Punkt ist bisher noch fast gar nichts bekannt. Es existieren nur Untersuchungen von *Meirowsky* über das Vorkommen einer Adrenalase in der Haut und dann die bekannten mikroskopischen Untersuchungen von *Bloch* mit dem Dopareagens. Das ist alles, was wir bis jetzt über den Fermentgehalt der Haut wissen. Ich habe darum versucht, in erster Reihe festzustellen, ob außer der Oxydase noch Fermente aus der kohlehydrat-, fett- und eiweißspaltenden Gruppe sich in der Haut finden, wo sie in der Haut lokalisiert sind, ob in den oberflächlichen oder in den tiefen Schichten, und ob auch das Unterhautfettgewebe gleichfalls Fermente aufzuweisen hat.

Als Material diente mir ausschließlich die Haut von Leichen, die im hiesigen pathologischen Institut zur Sektion kamen. Es wurde ein großes, möglichst blaß aussehendes Hautstück in der Mehrzahl der Fälle aus der Vorderseite des Oberschenkels sorgfältig herauspräpariert, so daß kein Fett ihm anhaftete, und dann mittels einer Schere in möglichst kleine Stücke zerlegt. In einer großen Reibeschale wurden diese dann unter reichlicher Verwendung von Glassplittern so lange zerrieben, bis ein fast homogener Brei sich gebildet hatte. Das gelang mir mit einiger Mühe am besten, wenn ich sukzessiv destilliertes Wasser bzw. physiologische Kochsalzlösung in kleinen Portionen bis zur doppelten Menge des Hautmaterials eintrug. Durchschnittlich verwandte ich 20 bis 30 g Haut und dementsprechend 40 bis 60 ccm Wasser. Dieser dicke Brei blieb bis zum nächsten Tage in einem stark gekühlten Eisschrank stehen, wurde dann scharf zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit für den Versuch verwandt. Der Extrakt war in den meisten Fällen klar, mitunter leicht opaleszent und von weißlicher oder leicht gelblicher Farbe; bisweilen zeigte er auch einen hellen rosa Ton.

Bevor ich an das Studium der Fermente herantrat, orientierte ich mich über die Reaktion eines solchen Extraktes. Hierbei bediente ich mich der kolorimetrischen Methode zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration nach *Michaelis* und stellte fest, daß die Reaktion stets ganz schwach alkalisch war. Sie schwankte zwischen $p_H = 7{,}1$ bis 7,5 und entsprach demnach ungefähr der Reaktion des Blutes.

**Diastase.**

Hiernach prüfte ich den Extrakt zunächst auf seinen Gehalt an Diastase. Ich bediente mich dabei der Reihenmethode von *Wohlgemuth*. A priori war zu erwarten, daß, wenn die Haut überhaupt Diastase enthielt, diese nur in sehr geringen Quantitäten bei ihr anzutreffen sein würde. Ich verwandte deshalb bei meinen Versuchen die 1 prom. Stärkelösung und verfuhr so, daß ich auf eine Reihe von Reagenzgläsern absteigende Mengen des Extraktes verteilte unter Verwendung von 1 proz. Kochsalzlösung und zu jedem Gläschen 2,0 ccm 1 prom. Stärkelösung hinzufügte. Nach Zusatz von Toluol wurden die Gläschen verschlossen auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt und nach Ablauf der Frist der Versuch in der üblichen Weise zu Ende geführt. Dabei zeigte sich, daß in keinem einzigen Falle das diastatische Ferment fehlte. Im ganzen untersuchte ich auf Diastase 18 Fälle, teile aber in folgender Tabelle das Resultat von nur zehn Fällen mit, indem ich gleichfalls das Alter und die Todesursache angebe.

*Tabelle I.*

| Nr. | Fall | $d_{24h}^{38^0}$ | Nr. | Fall | $d_{24h}^{38^0}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 11 | ♀, 58 Jahre, Gallenblasenempyem | 32,3 | 18 | ♀, 59 Jahre, Aortitis luetica | 64,5 |
| 12 | ♂, 56 Jahre, Bronchopneumonia tbc. | 32,3 | 19 | ♂, 74 Jahre, Myodegeneratio cordis | 250,0 |
| 13 | ♀, 75 Jahre, Carcinoma peritonei | 16,0 | 20 | ♀, 35 Jahre, Aorteninsuffizienz | 500,0 |
| 14 | ♀, 13 Jahre, Peritonitis | 32,3 | 21 | ♀, 22 Jahre, Endocarditis luetica, Embolie | 32,3 |
| 15 | ♂, 69 Jahre, Phthisis pulm. | 32,3 | 24 | ♂, 39 Jahre, Coma diabeticum | 64,5 |

Wir sehen zunächst, daß die Werte sehr beträchtlichen Schwankungen unterliegen. Am häufigsten kehrt der Wert 32,3 wieder, kann aber bisweilen um das Doppelte bis Achtfache, ja sogar 16fache steigen. Diesen beiden letzten Werten ($d_{24h}^{38^0} = 250$ bis $500$) bin ich allerdings nur einmal begegnet. Unter den nächst niederen befindet sich interessanterweise ein Fall, der an Coma diabeticum zugrunde gegangen ist. Es fragt sich nun, in welchem Verhältnis die in der Haut gefundenen Werte zu den Werten stehen, die man sonst in menschlichen Organen anzutreffen pflegt. Wenn wir von den Organen nur die Leber als dasjenige Organ, das im Mittelpunkt des Kohlehydratstoffwechsels steht, zum Vergleich heranziehen, so kommen wir zu der merkwürdigen Tatsache, daß die Haut viel reicher an Diastase ist als die Leber. Denn wie aus der Arbeit von *Maeda*[1]) hervorgeht, ist der Diastasewert der

[1]) *Maeda*, diese Zeitschr. **143**, H. 3/4, 1923.

Leber sehr gering, er schwankt zwischen $d_{24h}^{38^0} = 3$ bis 4. Allerdings muß man dabei berücksichtigen, daß der von ihm festgestellte Wert so ermittelt war, daß der Leberbrei mit der dreifachen Menge physiologischer Kochsalzlösung extrahiert war. Aber selbst wenn wir dieses Moment in Rechnung setzen, übertreffen immer noch die in der Haut ermittelten Werte erheblich die der Leber. Auch im Vergleich zum Blute selbst sind die Werte für die Hautdiastase recht beträchtlich. Denn wenn man mit Serum unter Verwendung von 1 prom. Stärkelösung in der gleichen Weise einen Versuch anstellt, so bekommt man Werte, die zwischen $d_{24h}^{38^0} = 100$ bis 800 schwanken, meist aber Werte, die zwischen 100 bis 400 liegen. Wenn man nun aber bedenkt, daß der Extrakt der Haut, wie ich ihn gewonnen habe, zum mindesten eine dreifache Verdünnung seines Fermentbestandes darstellt, vorausgesetzt, daß es mir gelungen war, das Ferment total zu extrahieren, so übertreffen die Werte der Haut bisweilen sogar noch die des Serums. Dieser überraschend hohe Gehalt an Diastase in der Haut kann nun entweder dadurch bedingt sein, daß die Hautzellen selbst Diastase in reichem Maße produzieren, oder auch dadurch, daß die Zellen der Haut die Diastase aus dem Blute bzw. der Lymphe schöpfen, in sich ausspeichern und nur langsam an das Blut bzw. die Lymphe wieder abgeben. Da für die erstere Möglichkeit keine Anhaltspunkte vorliegen, möchte ich glauben, daß die Haut die Diastase in ihren Zellen fixiert.

Die bisher mitgeteilten Resultate waren gewonnen mit Extrakten, die aus der ganzen Haut hergestellt waren. Es fragte sich nun, ob das Ferment im Corium lokalisiert ist, oder ob es sich auch in der oberflächlichen Epithelschicht der Haut findet. Um diese Frage zu entscheiden, habe ich mit Hilfe eines Rasiermessers bzw. eines *Thier*schen Transplantationsmessers die äußerste oberflächliche Schicht der Haut von Leichen in der Art abgetragen, wie man es zum Zwecke von Hauttransplantationen tut, und dann das Material in der gleichen Weise mit der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Der Extrakt wurde nach 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank durch scharfes Zentrifugieren von dem Hautmaterial getrennt und in der gleichen Weise auf seinen Diastasegehalt geprüft. Im ganzen habe ich in dieser Weise drei Fälle untersucht und auch hier denselben beträchtlichen Diastasegehalt wie oben feststellen können, nämlich $d_{24h}^{38^0} = 32{,}3$, 32,3, 64,5. Wir sehen also, daß auch die äußersten Schichten der Haut reich an Diastase sind. Dieser Befund, daß auch die Zellen, die nur noch einen ganz trägen Stoffwechsel haben, viel Diastase enthalten, spricht gleichfalls dafür, daß die Zellen der Haut die Eigenschaft besitzen, die Diastase in sich aufzuspeichern.

Sodann habe ich auch das Unterhautfettgewebe auf einen etwaigen Diastasegehalt geprüft. Ich verwandte hierzu das Fett von sehr fetten

Leichen und benutzte nur diejenigen Teile, die vollkommen frei von Blut waren. Das Fettgewebe wurde mit der Schere in möglichst kleine Stücke geschnitten und dann in der Reibeschale mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einem möglichst homogenen Brei verrieben. Nach 24stündigem Stehen im Eisschrank wurde der Extrakt durch scharfes Zentrifugieren abgetrennt und auf seinen Diastasegehalt untersucht. Ich prüfte auch hier drei Fälle und erhielt die Werte $d_{24h}^{38^0} = 32{,}5,\ 64{,}5,\ 64{,}5$. Wir sehen also auch, daß das Unterhautfettgewebe ebenfalls reich an Diastase ist, vielleicht nicht ganz in dem Maße wie die Haut.

**Lipase.**

Alsdann ging ich dazu über, den Hautextrakt auf die Gegenwart eines fettspaltenden Ferments zu untersuchen. Hierbei bediente ich mich des stalagmometrischen Verfahrens von *Rona* und *Michaelis*. Ich ging dabei so vor, daß ich 3,0 ccm Extrakt mit 25 ccm Tributyrinlösung und 1 ccm Phosphatgemisch ($p_H = 7{,}1$) vereinigte, sofort die Tropfenzahl feststellte und dann nach Verlauf von 30 und 60 Minuten den Fortgang der Spaltung beobachtete. Im ganzen habe ich so 24 Fälle untersucht und sämtliche mit positivem Resultat. Aus Rücksicht auf den kurz bemessenen Raum begnüge ich mich, das Resultat von nur 12 Fällen in Tabelle II mitzuteilen.

*Tabelle II.*

| Nr. | Fall | Tropfenzahl sofort | Tropfenzahl nach 30′ | Tropfenzahl nach 60′ | Tropfendifferenz |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | ♀, 25 Jahre, Meningitis | 139 | 108 | 108 | 31 |
| 2 | ♀, 40 Jahre, Magengeschwür | 143 | 112 | 111 | 32 |
| 3 | ♀, 48 Jahre, Sepsis | 143 | 110 | 107 | 36 |
| 6 | ♂, 17 Jahre, Meningitis tbc. | 144 | 121 | 114 | 30 |
| 8 | ♀, 23 Jahre, Sepsis | 139 | 109 | 106 | 33 |
| 11 | ♀, 58 Jahre, Gallenblasenempyem | 155 | 124 | 121 | 34 |
| 15 | ♂, 69 Jahre, Phthisis pulm. | 158 | 130 | 120 | 38 |
| 18 | ♀, 59 Jahre, Aortitis luetica | 143 | 114 | 110 | 33 |
| 19 | ♂, 74 Jahre, Myodegeneratio cordis | 141 | 115 | 112 | 29 |
| 20 | ♀, 35 Jahre, Aorteninsuffizienz | 154 | 125 | 118 | 36 |
| 21 | ♀, 22 Jahre, Endocarditis luetica, Embolie | 137 | 111 | 107 | 30 |
| 24 | ♂, 39 Jahre, Coma diabeticum | 141 | 110 | 107 | 34 |



Aus Tabelle II ersehen wir, daß die Tributyrinspaltung in sämtlichen Fällen recht beträchtlich ist. Wir begegnen hier bisweilen Tropfendifferenzen, wie man sie mitunter beim Serum nicht größer zu finden pflegt. Nun war zwar nicht in allen Fällen das Resultat ein so günstiges; bei manchen Extrakten ergeben sich auch Werte von nur 27 und 23 Tropfen, in einem Falle sogar nur 19 Tropfen. Aber andererseits muß man auch bedenken, daß sicherlich nur ein kleiner Teil der Lipase in den wässerigen Extrakt übergegangen ist. Denn aus den Untersuchungen von *Willstätter* wissen wir, daß die Lipase keine Neigung hat, in Wasser überzugehen, daß es selbst aus lipasereichen Fermentpräparaten mit Hilfe von Wasser nur sehr schwer gelingt, einen einigermaßen wirksamen Extrakt zu gewinnen. Wenn man dieses Moment berücksichtigt, darf man aus den obigen Zahlen den Schluß ziehen, daß die Haut verhältnismäßig reich an Lipase ist.

Es fragt sich nun, welchen Typus der Lipase wir in der Haut vor uns haben. Nach den Untersuchungen von *Rona*[1]) und seinen Mitarbeitern hat man zwischen atoxyl- und chininempfindlichen Lipasen zu unterscheiden; die Lipase des Pankreas und des Darmes ist gegen Chinin, die der Leber gegen Atoxyl und die des Serums sowohl gegen Chinin wie Atoxyl empfindlich. Ich prüfte nun, wie sich die Hautlipase dem Chinin und Atoxyl gegenüber verhält. Dabei ging ich so vor, daß ich zu 3,0 ccm Extrakt und 20,0 ccm Tributyrinlösung und 1,0 ccm Phosphatgemisch 10 mg Chinin bzw. 10 mg Atoxyl zusetzte und die Tropfenzahl mit der entsprechenden Kontrolle verglich. Im ganzen untersuchte ich auf diese Weise 17 Fälle, ich teile aber in Tabelle III das Resultat von nur fünf Fällen mit.

Aus Tabelle III ersehen wir, daß das Chinin in keinem einzigen Falle die Lipasewirkung beeinträchtigt, Atoxyl im Falle 23 eine geringe Abschwächung hervorruft. Einer solchen schwachen Beeinflussung durch Atoxyl begegnete ich auch noch in anderen Fällen, aber es wäre wohl nicht berechtigt, hiernach von einer Atoxylempfindlichkeit der Hautlipase zu sprechen. Nur in einem einzigen Falle von 17 Fällen beobachtete ich eine ausgesprochene Hemmung; hier ergab sich in Gegenwart von Atoxyl eine Tropfendifferenz von 7 gegenüber 27 Tropfen der Kontrolle. Ich glaube aber, daß man diesen Fall als eine Ausnahme betrachten muß, und daß man trotzdem annehmen darf, daß die Hautlipase nicht atoxylempfindlich ist. Bezüglich des Chinins ergaben sich in keinem Falle Differenzen gegenüber der Kontrolle. Wir haben es also in der Haut mit einer Lipase zu tun, die weder chinin- noch atoxylempfindlich ist, somit einen besonderen Typus darstellt, wie man ihn

---

[1]) *P. Rona, Petow, Schreiber* und *Pavlovic*, Klin. Wochenschr. **1**, 2366, 1922; diese Zeitschr. **134**, 108, 1923.

*Tabelle III.*

| Nr. | Fall | | Tropfenzahl | | | Tropfendifferenz |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | sofort | nach 30′ | nach 60′ | |
| 8 | ♀, 23 Jahre, Sepsis post abortum | Kontrolle | 139 | 109 | 106 | 33 |
| | | + 10 mg Chinin | 141 | 116 | 114 | 27 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 142 | 118 | 112 | 30 |
| 9 | ♀, 67 Jahre, Apoplexie | Kontrolle | 143 | 119 | 115 | 28 |
| | | + 10 mg Chinin | 150 | 124 | 123 | 27 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 146 | 123 | 119 | 27 |
| 21 | ♀, 22 Jahre, Endocarditis luetica, Embolie | Kontrolle | 137 | 111 | 107 | 30 |
| | | + 10 mg Chinin | 147 | 120 | 117 | 30 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 138 | 113 | 112 | 26 |
| 23 | ♂, 47 Jahre, Allgemeine Blutvergiftung | Kontrolle | 141 | 122 | 113 | 28 |
| | | + 10 mg Chinin | 146 | 131 | 121 | 25 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 141 | 131 | 120 | 21 |
| 24 | ♂, 39 Jahre, Coma diabeticum | Kontrolle | 141 | 110 | 107 | 34 |
| | | + 10 mg Chinin | 144 | 118 | 116 | 28 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 142 | 116 | 112 | 30 |

bisher noch in keinem menschlichen Organ angetroffen hat. Vor kurzem hat *Maeda* (l. c.) in der Placenta denselben Lipasetypus beobachtet und ausführlich darüber berichtet.

In der gleichen Weise wurde der Extrakt aus den oberflächlichen Hautpartien, den ich mir in der oben beschriebenen Weise hergestellt hatte, auf seinen Lipasegehalt untersucht. Auch in ihm fand ich ganz beträchtliche Lipasewerte, wie aus Tabelle IV ersichtlich.

*Tabelle IV.*
(Oberflächliche Haut.)

| Nr. | Fall | Tropfenzahl | | | Tropfendifferenz |
|---|---|---|---|---|---|
| | | sofort | nach 30′ | nach 60′ | |
| 27 | ♂, 65 Jahre, Prostatahypertrophie | 144 | 112 | 108 | 36 |
| 32 | ♀, 56 Jahre, Ulcus ventriculi | 144 | 118 | 111 | 33 |
| 35 | ♀, 65 Jahre, Lungenentzündung, Herzschwäche | 152 | 120 | 119 | 33 |

Die Werte stehen in nichts den in Tabelle III mitgeteilten nach, ein Zeichen, daß auch in der obersten Hautschicht noch fermentative Prozesse sich abspielen. Leider waren die mir zur Verfügung stehenden Extraktmengen zu gering, um auch an ihnen die Wirkung des Chinins und Atoxyls zu studieren. Ich glaube aber nicht, daß sich hier Differenzen gegenüber den tieferen Hautschichten ergeben hätten. Dies um so mehr, als auch die Untersuchung des Unterhautfettgewebes ein ähnliches Resultat ergab wie die Haut selbst.

Aus dem Unterhautfettgewebe hatte ich mir in der oben beschriebenen Weise einen Extrakt hergestellt und diesen auf Lipase in der gleichen Weise wie die anderen Extrakte untersucht und auf ihr Verhalten gegenüber Chinin und Atoxyl geprüft. Ich teile das Resultat von vier Fällen in Tabelle V mit.

*Tabelle V.*
(Unterhautfettgewebe.)

| Nr. | Fall | | Tropfenzahl sofort | Tropfenzahl nach 30′ | Tropfenzahl nach 60′ | Tropfendifferenz |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 17 | ♀, 30 Jahre, Sepsis post abortum | Kontrolle | 150 | 117 | 112 | 38 |
| | | + 10 mg Chinin | 156 | 123 | 120 | 36 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 156 | 125 | 125 | 31 |
| 22 | ♀, 34 Jahre, Anaphylaxie nach Bluttransfusion | Kontrolle | 144 | 109 | 107 | 37 |
| | | + 10 mg Chinin | 147 | 117 | 115 | 32 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 142 | 112 | 111 | 31 |
| 30 | ♂, 57 Jahre, Myocarditis | Kontrolle | 144 | 108 | 108 | 36 |
| | | + 10 mg Chinin | 148 | 120 | 120 | 28 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 143 | 118 | 115 | 28 |
| 36 | ♀, 73 Jahre, Bauchsarkom | Kontrolle | 145 | 113 | 110 | 35 |
| | | + 10 mg Chinin | 146 | 117 | 113 | 33 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 141 | 114 | 113 | 28 |

Zunächst sehen wir auch hier in allen vier Fällen eine kräftige Lipasewirkung, die der des Serums fast gleichkommt. Sodann ist in keinem Falle eine Beeinflussung durch Chinin und ebenso durch Atoxyl zu beobachten. Es findet sich demnach im Unterhautfettgewebe die gleiche chinin- und atoxylfeste Lipase wie in der Haut selber.

Es fragt sich nun, wie man diesen Befund einer von den anderen Lipasen des menschlichen Organismus grundverschiedenen Lipase in Haut- und Unterhautfettgewebe erklären soll. Zwei Möglichkeiten muß man hier ins Auge fassen. Entweder ist die Lipase hier an Ort und Stelle gebildet worden, oder sie ist aus dem Blute und der Lymphe in die Zellen übergegangen und hat hier ihren Charakter vollkommen geändert. Denn wir haben oben gesehen, daß die Lipase des Serums sowohl chinin- wie atoxylempfindlich ist. Demnach müßten, wenn die Hautlipase aus dem Blute stammt, die Hautzellen die Fähigkeit besitzen, die Chinin- und Atoxylempfindlichkeit wieder aufzuheben. Für eine solche Annahme aber haben wir bisher nicht den geringsten Anhalt. Dagegen wissen wir, daß die in der Haut liegenden Talgdrüsen große Mengen Fett produzieren. Wenn man sich nun auf den durchaus berechtigten Standpunkt stellt, daß Fermente ebenso aufbauen können wie sie abbauen, so liegt der Gedanke nahe, daß bei diesem Fettstoffwechsel, der in erster Reihe ein synthetischer Prozeß ist, auch die

Lipase der Haut eine Rolle spielt. Vielleicht stammt auch die Lipase, die wir in den Hautextrakten nachweisen konnten, in der Hauptsache aus den Talgdrüsen. Dafür spräche auch der reiche Lipasegehalt der Extrakte aus den obersten Hautschichten. Ich möchte also auf Grund dieser Überlegung annehmen, daß die Hautlipase in erster Reihe ein Produkt der Hautzellen ist.

Daß die Lipase aus dem Unterhautfettgewebe sich ebenso refraktär dem Chinin und Atoxyl gegenüber verhält wie die Hautlipase, könnte fast auf einen inneren Zusammenhang zwischen beiden hindeuten. Dann hätte aber die Lipase des Unterhautfettgewebes sich von derjenigen, die beispielsweise im Fette der Nierenkapsel oder im Mesenterialfett sich findet, unterscheiden müssen. Um das festzustellen, habe ich mir aus Nierenkapselfett sowohl wie aus Mesenterialfett in der gleichen Weise wie oben beschrieben Lipaselösungen hergestellt und ihr Verhalten gegen Chinin und Atoxyl geprüft. Die Reaktion dieser Extrakte schwankte zwischen $p_H = 7,2$ bis 7,3. Als Beleg teile ich in Tabelle VI zwei Untersuchungsreihen mit.

*Tabelle VI.*

| Fall | | | Tropfenzahl sofort | Tropfenzahl nach 30′ | Tropfenzahl nach 60′ | Tropfendifferenz |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Nierenkapselfett | Kontrolle | 139 | 98 | 97 | 42 |
| | | + 10 mg Chinin | 142 | 112 | 108 | 34 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 136 | 107 | 103 | 33 |
| | Mesenterialfett | Kontrolle | 135 | 102 | 95 | 40 |
| | | + 10 mg Chinin | 143 | 114 | 110 | 33 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 134 | 116 | 107 | 26 |
| 2 | Nierenkapselfett | Kontrolle | 137 | 101 | 97 | 40 |
| | | + 10 mg Chinin | 145 | 111 | 107 | 38 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 140 | 107 | 105 | 35 |
| | Mesenterialfett | Kontrolle | 136 | 96 | 95 | 41 |
| | | + 10 mg Chinin | 141 | 109 | 103 | 38 |
| | | + 10 mg Atoxyl | 138 | 105 | 102 | 36 |

Hiernach unterscheidet sich die Lipase des Unterhautfettgewebes in nichts von den beiden anderen Lipasen, und es besteht demnach kein Grund zu der Annahme, daß die Lipase des Unterhautfettgewebes zu der Hautlipase in irgendwelcher Beziehung steht.

## Proteolytisches Ferment.

Sodann wandte ich mich der Frage zu, ob vielleicht auch ein proteolytisches Ferment in der Haut vorhanden ist. Ich prüfte deshalb eine Reihe von Extrakten auf ihre Fähigkeit, Fibrinflocken zu verdauen. Dabei zeigte sich, daß weder bei saurer, noch bei schwach alkalischer,

14*

noch bei neutraler Reaktion eine Carminfibrinflocke von den Extrakten angegriffen wurde. Trotz dieses negativen Ergebnisses fahndete ich doch noch auf die Gegenwart von Lab. Denn wir wissen aus den Untersuchungen von *Pawlow*, daß, wenn in einer Lösung Pepsin nicht mehr nachweisbar ist, eine Labwirkung doch noch mit ihr erzielt werden kann. Von der Überlegung ausgehend, daß, wenn ein Hautextrakt Lab enthält, dieses aller Wahrscheinlichkeit nach sich in seinem Zymogenzustande in ihm befindet, habe ich zur Aktivierung des Labs 5 ccm des Extraktes mit 3 ccm n/10 HCl versetzt und eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehengelassen. Danach wurde ein Labversuch mit Milch, der noch etwas Calciumchlorid zugesetzt wurde, ausgeführt; aber das Resultat war in allen Fällen ein negatives.

Hiernach ging ich dazu über, festzustellen, ob in der Haut vielleicht ein autolytisches Ferment vorhanden ist. Diese Frage interessierte mich im Hinblick auf die so oft zu beobachtende Mazeration abgestorbener Föten. Manche Gynäkologen sind geneigt, dem Fruchtwasser hierbei eine Rolle beizumessen. Aber aus den Untersuchungen von *Bondi*[1]) und neuerdings von *Maeda*[2]) geht hervor, daß im Fruchtwasser kein proteolytisches Ferment vorhanden ist. Es lag darum nahe, zu vermuten, daß die Haut selbst an der Mazeration aktiv beteiligt ist. Um das zu entscheiden, ging ich so vor, daß ich möglichst fein zerkleinerte Haut mit Chloroformwasser im Verhältnis 1 : 10 mischte und dieses Gemisch im Brutschrank hielt, und nun in bestimmten Zeitintervallen den in Lösung gegangenen Stickstoff nach *Kjeldahl* und den Aminosäurenstickstoff nach *Sörensen* bestimmte. Als Kontrolle diente eine Portion von der gleichen Zusammensetzung, in der aber durch Kochen das Ferment zerstört war. Im ganzen untersuchte ich drei Fälle und teile das Resultat in Tabelle VII mit. Sämtliche Werte sind Mittelwerte aus gut übereinstimmenden Doppelanalysen.

*Tabelle VII.*

| Nr. | Fall | | *Kjeldahl* (mg N in 100 ccm) | | | | *Soerensen* (mg N in 100 ccm) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | vorher | 2 Tage 38° C | 4 Tage 38° C | 8 Tage 38° C | vorher | 2 Tage 38° C | 4 Tage 38° C | 8 Tage 38° C |
| 28 | ♀, 28 Jahre, Uterusperforation | nicht gekocht | 29,4 | 42,8 | 46,6 | 53,5 | 2,3 | 8,4 | 18,2 | 15,7 |
| | | gekocht | 49,5 | 49,7 | 50,5 | 50,5 | 12,8 | 12,6 | 12,6 | 12,6 |
| 29 | ♀, 65 Jahre, Cerebrale Erweichungsherde | nicht gekocht | 30,8 | 40,0 | 44,8 | 49,0 | 2,8 | 4,2 | 8,4 | 8,4 |
| | | gekocht | 53,2 | 56,7 | 58,8 | 60,2 | 4,5 | 4,2 | 4,2 | 4,2 |
| 31 | ♂, 3 Monate altes Kind, Lues congenita | nicht gekocht | 28,0 | 40,6 | 47,6 | 58,8 | 4,2 | 15,4 | 18,2 | 14,0 |
| | | gekocht | 71,5 | 72,1 | 74,9 | 77,0 | — | — | — | — |

[1]) *Bondi*, Centralbl. f. Gynäkol. 1903, Nr. 21.
[2]) *Maeda*, diese Zeitschr. 144, H. 1/2, 1924.

Aus Tabelle VII ersehen wir, daß schon nach zweitägigem Verweilen im Brutschrank die Autolyse einsetzt und von Tag zu Tag weitere Fortschritte macht. Besonders deutlich sehen wir das an den Zahlen für den Aminosäurenstickstoff; er nimmt in den ersten 4 Tagen um das Drei- bis Achtfache zu. Am achten Tage scheint ein Stillstand einzutreten, bisweilen sogar ein Rückschritt; wahrscheinlich spielen hier regressive Vorgänge eine Rolle. Über noch längere Zeit die Versuche auszudehnen, schien mir unnötig zu sein. Denn es kam mir nur darauf an, festzustellen, ob sich überhaupt ein autolytisches Ferment in der Haut findet. Und das glaube ich auch durch diese kurzdauernden Versuche in einwandfreier Weise dargetan zu haben.

Bei dieser verhältnismäßig ausgiebigen Abspaltung von Aminosäuren war es von Interesse festzustellen, ob auch ein *peptolytisches Ferment* sich in der Haut findet. Ich ließ deshalb frischen Hautextrakt auf das Dipeptid Glycyl-Tryptophan einwirken, das mir Herr Professor *Wohlgemuth* in freundlicher Weise zur Verfügung stellte. Im ganzen untersuchte ich drei Extrakte und erhielt in allen Fällen ein positives Resultat. Die Versuche führte ich so aus, daß ich mir zunächst in der oben beschriebenen Weise aus Haut einen Extrakt herstellte. Hierbei richtete ich mein Augenmerk darauf, nur solche Haut zu verwenden, die vollkommen blutfrei zu sein schien und einen Extrakt lieferte, der keine Spur einer Rosafärbung zeigte. Diese Vorsicht war unbedingt notwendig, da das Blut in hohem Maße befähigt ist, das Dipeptid zu spalten. 5,0 ccm des frisch hergestellten Extraktes wurden alsdann versetzt mit 0,1 g Glycyltryptophan, das in 1,0 ccm Wasser gelöst war, mit Toluol überschichtet und dann auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf der Frist wurde eine Probe entnommen und etwas Bromdampf hinzugefügt; dabei trat sofort in jedem Falle die für Tryptophan typische Violettfärbung ein. Die Kontrolle mit Hautextrakt allein war natürlich stets negativ.

### Katalase.

Die Katalase ist eines der am meisten verbreiteten Fermente im tierischen Organismus. In fast allen Organen hat man sie angetroffen, allerdings in wechselnder Stärke. Um so verwunderlicher ist, daß man nicht auch die Haut auf das Vorkommen von Katalase untersucht hat. Bei dem außerordentlich hohen Gehalt des Blutes an Katalase mußte man bei der Herstellung der Extrakte ganz besonders vorsichtig zu Werke gehen, wollte man nicht einem Irrtum zum Opfer fallen. Deshalb habe ich für diese Untersuchung genau wie für die des peptolytischen Ferments nur solche Hautstücke verarbeitet, die ganz anämisch waren und vollkommen frei von Blut zu sein schienen und einen Extrakt lieferten, der keine Spur einer Rosafärbung zeigte.

Mit diesem Extrakt wurde der Versuch so ausgeführt, daß 5,0 ccm versetzt wurden mit 5 ccm einer etwa 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung und eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen blieben. Danach wurden 10 ccm 10 proz. Schwefelsäure zugefügt und mit n/20 Kaliumpermanganatlösung der unzersetzt gebliebene Anteil des $H_2O_2$ zurücktitriert. Im ganzen untersuchte ich auf diese Weise sieben Fälle. Die Reaktion der Extrakte schwankte zwischen $p_H = 7{,}2$ bis 7,4. Desgleichen untersuchte ich drei Extrakte von der Epidermis, die in der gleichen Weise hergestellt waren, und drei Extrakte aus Unterhautfettgewebe. Die gefundenen Resultate gebe ich in Tabelle VIII wieder.

*Tabelle VIII.*

| Nr. | Material | n/20 $KMnO_4$ | Nr. | Material | n/20 $KMnO_4$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 13 | Ganze Haut . . . . . | 11,5 | 27 | Oberflächliche Haut . | 17,9 |
| 14 | „ „ . . . . . | 11,5 | 32 | „ „ . | 16,3 |
| 16 | „ „ . . . . . | 12,05 | 35 | „ „ . | 15,0 |
| 18 | „ „ . . . . . | 14,5 | 22 | Unterhautfettgewebe . | 20,0 |
| 20 | „ „ . . . . . | 27,5 | 30 | „ . | 18,4 |
| 21 | „ „ . . . . . | 27,2 | 36 | „ . | 42,7 |
| 23 | „ „ . . . . . | 22,7 | | | |

Wir sehen, daß die Katalase in der Haut nicht unbeträchtlich ist und ebenso findet sich auch in den Epidermisschichten Katalase in den gleichen Quantitäten. Das Unterhautfettgewebe hat sich gleichfalls als katalasehaltig erwiesen, doch ist es nicht fermentreicher als die Haut bzw. die Epidermis, auch wenn der Wert im Falle Nr. 36 besonders hoch ist. Denn die Extrakte aus dem Unterhautfettgewebe sind so hergestellt, daß ein Teil Fett mit einem Teile Wasser verrieben ist, während bei den Hautextrakten ein Teil Substanz mit zwei Teilen Wasser extrahiert wurden.

## Phenolase.

Endlich habe ich noch sämtliche Extrakte auf ihren Gehalt an Phenolase geprüft. *Meirowsky*[1]) hat, wie bereits oben erwähnt, Hautextrakte auf Adrenalin wirken lassen und sie in den meisten Fällen wirksam gefunden, während Tyrosin von ihnen nicht angegriffen wurde. Da ferner aus den Untersuchungen von *Bloch* hervorgeht, daß auch Dioxyphenylalanin, das unter dem Namen Dopareagens allgemein bekannt ist, von der Haut oxydiert wird, untersuchte ich, ob auch noch ein anderes zweifach hydroxyliertes Benzolderivat von der Hautoxydase angegriffen wird. Als solches verwandte ich das

[1]) *E. Meirowski*, Zentralbl. f. allg. Pathol. **20**, 301, 1909.

leicht zugängliche Brenzcatechin und führte daneben zum Vergleich stets einen Versuch mit Adrenalin aus. Ich ging dabei so vor, daß ich in einem Reagenzglase 2 bis 3 ccm des frisch hergestellten Hautextraktes versetzte mit 1,0 ccm einer etwa 1 proz. Brenzcatechinlösung, Toluol hinzufügte und das Gläschen verschlossen in den Brutschrank stellte. Die Adrenalinprobe wurde in der gleichen Weise angesetzt und dann nach 24 Stunden das Resultat festgestellt. Dabei zeigte sich, daß das Brenzcatechin von dem Hautextrakt weit energischer oxydiert wird als das Adrenalin. Während in einzelnen Fällen die Adrenalinproben gar keine Verfärbung zeigten, die Wirkung also eine negative war, blieb beim Brenzcatechin niemals der Effekt aus; die Wirkung schwankte stets zwischen hell- und dunkelbraun. In zwei Fällen zeigte allerdings die Adrenalinprobe eine etwas stärkere Braunfärbung als die Probe mit Brenzcatechin. Die Extrakte aus den oberflächlichen Hautschichten waren Adrenalin gegenüber fast wirkungslos, und auch Brenzcatechin wurde von ihnen nur in geringem Grade angegriffen. Das Unterhautfettgewebe zeigte gegen Adrenalin gar keine, gegen Brenzcatechin nur eine ganz schwache Wirkung.

Zusammenfassend hat sich also folgendes ergeben:

1. Die Haut enthält sowohl in ihren oberflächlichen wie in ihren tiefen Schichten Diastase in nicht unbeträchtlichen Mengen;

2. desgleichen Lipase; und zwar handelt es sich hier um eine Lipase, die sowohl chinin- wie atoxylresistent ist, also von den bisher im Körper bekannt gewordenen grundverschieden ist.

3. Auch ein autolytisches Ferment ist in der Haut enthalten und ebenso ein peptolytisches Ferment, das imstande ist, Glycyltryptophan zu zerlegen.

4. Katalase ist in sämtlichen Schichten der Haut in nicht unbeträchtlichem Maße enthalten.

5. Die Oxydase der Haut ist nur befähigt, zweifach hydroxylierte Benzolderivate, wie Brenzcatechin, Adrenalin und Dioxyphenylalanin, zu zerlegen, nicht dagegen Benzolderivate mit einer Hydroxylgruppe.

---



# Zur Kenntnis der Phenolasen im Blute.

Von

**Kanzaburo Hizume** (Osaka).

(Aus der chemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

*(Eingegangen am 12. März 1924.)*

Daß das Blut eine Phenolase enthält, ist eine bekannte Tatsache. Wenn man von früheren Arbeiten absieht, so geht aus den Untersuchungen von *Batelli* und *Stern*[1]) hervor, daß das Blut imstande ist, p-Phenylendiamin zu oxydieren, und daß diese Eigenschaft geknüpft ist an die roten Blutkörperchen bzw. das Hämoglobin, während das Serum fast wirkungslos ist.

Im Hinblick auf den ständigen Übertritt von Adrenalin aus den Nebennieren ins Blut, das manchmal in vermehrter Menge im Blute angetroffen wird, in den meisten Fällen jedoch sich dem Nachweis entzieht, interessierte uns die Frage, ob das Blut selber imstande ist, das Adrenalin zu zerstören, und ob sich hier in bestimmten Fällen gewisse Unterschiede erkennen lassen. Denn a priori kann man sich das Verschwinden des Adrenalins aus dem Blute auch so erklären, daß es bei seiner Passage durch die Organe von diesen zerstört wird. Zunächst galt es festzustellen, ob das Serum allein befähigt ist, das Adrenalin zu vernichten, oder ob hier, wie beim p-Phenylendiamin, die Mitwirkung der roten Blutkörperchen ein unbedingtes Erfordernis ist.

Wenn man zu frischem, vollkommen hämoglobinfreiem Serum etwas Adrenalin in Form des käuflichen Suprareninum hydrochl. (1 : 1000) zufügt und die Probe in ein Wasserbad von 38° C stellt, so beobachtet man nach einiger Zeit, daß das anfänglich gelbliche Gemisch eine rosa Farbe annimmt, und daß nach mehreren Stunden die Lösung hellrot ist. Eine Kontrolle, bestehend aus der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung + Adrenalin zeigte in derselben Zeit eine nur ganz schwache Färbung. Stellt man sich dagegen aus dem käuflichen Normosal eine dem Blute entsprechende Salzlösung her und versetzt sie mit Adrenalin, so kann man auch hier bisweilen eine schnelle

---

[1]) *Batelli* und *Stern*, diese Zeitschr. **46**, 317, 343, 1912.

Verfärbung der Lösung wie beim Serum konstatieren. Hiernach hatte es den Anschein, als ob die im Serum enthaltenen Salze das sehr empfindliche Adrenalin zersetzt hätten. Wenn das der Fall war, so mußte ein salzfreies Serum dem Adrenalin gegenüber wirkungslos sein. Es wurde deshalb Serum, um es salzfrei zu machen, gegen fließendes Wasser 24 bzw. 48 Stunden dialysiert und nun auf seine Fähigkeit, Adrenalin zu zersetzen, geprüft. Dabei zeigte sich, daß seine oxydierende Kraft nichts eingebüßt hatte, ja in manchen Fällen schien es, daß die Wirkung des dialysierten Serums stärker war als die des nativen. Bei meinen Bemühungen, quantitative Messungen des Adrenalinabbaues auf Grund der Farbenveränderung vorzunehmen, begegnete ich bisweilen ganz ungleichen, häufig sich widersprechenden Resultaten. Worauf das zurückzuführen war, konnte ich jedoch nicht mit Sicherheit feststellen. Ich möchte indes annehmen, daß diese Versuche in erster Reihe mißglückt sind wegen der außerordentlichen Empfindlichkeit des Adrenalins diffusem Tageslicht gegenüber.

Ich ging deshalb dazu über, zu untersuchen, ob auch noch andere hydroxylierte Benzolderivate vom Serum oxydiert werden, die der Einwirkung des Lichtes nicht in dem Maße unterliegen wie das Adrenalin, und zwar Brenzcatechin und Dioxyphenylalanin. Was zunächst das letztere anbetrifft, das unter dem Namen Dopareagens bekannt ist, so ließ sich feststellen, daß dasselbe vom Serum sehr schnell oxydiert wird. Ein paar Tropfen des in Wasser gelösten Reagens frischem Serum zugesetzt und 30 Minuten im Wasserbade von 38° C gehalten, gaben dem Gemisch eine dunkelgraue Färbung, die bei weiterer Ausdehnung des Versuchs über 1 bis 2 Stunden grauschwarz wurde, während die entsprechende Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung in derselben Zeit meistens nur eine leichte Graufärbung oder gar keine Veränderung der anfänglichen Färbung zeigte. Bisweilen traten aber auch hier in den Kontrollen ganz unvermittelt starke Verfärbungen auf, die den Vergleich mit der Serumportion erheblich störten.

Weit beständigere Resultate erhielt ich mit dem Brenzcatechin, und ich habe mich deshalb in meinen weiteren Untersuchungen stets des Brenzcatechins bedient. Auch Brenzcatechin wird von Serum kräftig oxydiert. Wenn man zu 1,0 ccm frischem Serum 1,0 ccm 1proz. Brenzcatechinlösung zugibt und diese Probe im Wasserbade bei 38° C hält, so kann man schon nach einer halben Stunde eine hellbräunliche Verfärbung konstatieren, die von Stunde zu Stunde intensiver wird und schließlich in Schwarzbraun übergeht.

Es lag mir nun daran, die Serumoxydase unter verschiedenen Bedingungen zu untersuchen und dann auch verschiedene Sera bezüglich ihres Oxydationsvermögens untereinander zu vergleichen. Das war natürlich nur mit Hilfe einer quantitativen Methode möglich, und es



war darum meine nächste Aufgabe, eine solche Methode zu ermitteln. Einer Anregung von Herrn Prof. Dr. *Wohlgemuth* folgend, verwandte ich zu diesem Zwecke das Reihenverfahren, das sich schon bei so vielen Fermenten als ein sehr bequemes und ersprießliches erwiesen hatte.

Ich ging dabei so vor, daß ich auf eine Reihe von zehn Reagenzgläsern zunächst Serum in absteigenden Mengen verteilte, und zwar so, daß in das erste Gläschen 1,0 ccm, in das zweite 0,5 ccm, in das dritte 0,25 ccm, in das vierte 0,125 ccm usf. kamen. Dann wurden jedem Gläschen 2,0 ccm einer ganz frisch hergestellten 1proz. Brenzcatechinlösung zugefügt, alle Gläschen mit Watte verschlossen und die ganze Reihe auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Selbstverständlich wurde jedesmal eine Kontrollprobe, bestehend in 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 2,0 ccm Brenzcatechinlösung, beigegeben. Nach Ablauf der Frist wurden die Gläschen aus dem Brutschrank herausgenommen und nun festgestellt, welche Serumverdünnung noch eine stärkere Verfärbung zeigte als die Kontrolle. Diejenige kleinste Serummenge, die noch eine deutliche Oxydation erkennen ließ, galt als die unterste Grenze der Wirksamkeit, und aus ihr wurde dann die Stärke der Phenolase für 1,0 ccm Serum bestimmt. Wenn die unterste Grenze der Wirksamkeit z. B. dem vierten Gläschen entsprach, das, wie aus obiger Aufstellung ersichtlich, 0,125 ccm Serum enthält, so ergab sich daraus der Wert $\frac{1,0}{0,125} = 8$. Abgekürzt bezeichne ich den Wert mit Phen = 8.

Mit Hilfe dieser Methode untersuchte ich zunächst, bei welcher Reaktion eine optimale Wirkung im Serum zu erzielen ist. Ich ging dabei so vor, daß ich mir nach der Vorschrift von *Sörensen* aus n/10 Lösungen von Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat zehn Puffergemische herstellte, deren Reaktionen schwankten zwischen $p_H = 8,0$ bis 5,4 und nun zehn Reihen mit dem gleichen Serum ansetzte, zu jeder Reihe von dem entsprechenden Phosphatgemisch 1,0 ccm jedem Gläschen zufügte — natürlich unter Verwendung von entsprechenden Kontrollen — und alle Gläschen auf 24 Stunden in den Brutschrank stellte. Dabei zeigte sich, daß diejenige Reihe, deren Reaktion $p_H = 7,38$ entsprach, die stärkste Wirkung aufzuweisen hatte. Da diese Wasserstoffionenkonzentration etwa der des Serums entspricht, habe ich alle meine späteren Versuche mit Serum ohne Zusatz eines Phosphatgemisches ausgeführt.

Hiernach untersuchte ich, ob die Phenolase im Serum sich unverändert hält, oder ob sie bei längerem Stehen des Serums schwächer wird, und ob dabei die Temperaturverhältnisse eine Rolle spielen. Zu dem Zwecke wurde ein größeres Quantum frisch gewonnenen menschlichen Serums in drei Portionen geteilt, mit Toluol überschichtet,

die eine im Brutschrank, die andere bei Zimmertemperatur und die dritte im Eisschrank gehalten, nachdem zuvor mit dem frischen Serum sofort ein quantitativer Versuch angestellt war. In verschiedenen Zeitintervallen wurden den drei Portionen kleine Proben entnommen und ihr Gehalt an Phenolase in der oben beschriebenen Weise ermittelt. Dabei ergab sich, daß sämtliche Portionen noch nach zehntägigem Stehen Brenzcatechin in derselben Stärke oxydierten, wie zu Beginn des Versuchs. Der Anfangswert betrug Phen = 16, der Endwert in sämtlichen drei Portionen nach 10 Tagen gleichfalls Phen = 16.

Danach prüfte ich, ob längeres Erwärmen bei höherer Temperatur von Einfluß auf die Phenolase ist. Ich erwärmte verschiedene Sera von bekannter Wirkung 30 Minuten lang auf 56° C und prüfte nachher ihr Oxydationsvermögen. Auch hier zeigte sich keine Beeinträchtigung der ursprünglichen Wirkung.

Nach diesen orientierenden Versuchen ermittelte ich den Phenolasegehalt im Serum von normalen Individuen. In der Mehrzahl der Fälle stammte das Serum von Rekonvaleszenten, die kurz vor ihrer Entlassung aus dem Krankenhause standen. Im ganzen wurden 15 Sera untersucht. Der Wert bei ihnen schwankte zwischen Phen = 8 bis 32.

Auch Serum von Kindern im Säuglingsalter habe ich untersucht. Hier standen mir allerdings nur fünf Fälle zur Verfügung, darunter das Serum von einem 8 Wochen alten Säugling. Während letzteres den Wert von Phen = 4 ergab, betrug bei den anderen Sera der Phenolasegehalt 8. Es scheint danach, daß schon im ersten Lebensjahre das Blut einen Phenolasewert erreicht, der dem des Erwachsenen kaum nachsteht.

Zum Vergleich untersuchte ich dann das Serum von Meerschweinchen, Kaninchen, Hund und Hammel. Als Durchschnittswert ergab sich für Meerschweinchen der Wert Phen = 8, für Kaninchen Phen = 16, für Hund gleichfalls Phen = 16 und für Hammel Phen = 32. Hiernach scheint das Hammelblut am meisten Phenolase zu enthalten, dann folgt das Blut vom Kaninchen und Hunde und schließlich das Blut des Meerschweinchens. Auch *Batelli* und *Stern* konnten zeigen, daß das Hammelblut ein besonders starkes Oxydationsvermögen gegenüber p-Phenylendiamin besitzt.

Hiernach prüfte ich das Blut von Graviden in den verschiedensten Stadien der Schwangerschaft, und zwar im fünften, sechsten, siebenten, achten, neunten und Anfang des zehnten Monats. Im ganzen standen mir acht Fälle zur Verfügung. Mit Ausnahme der Fälle vom neunten und zehnten Monat schwankte der Phenolasegehalt des Serums zwischen Phen = 16 bis 32. In den beiden anderen Fällen beobachtete ich den abnorm hohen Wert von Phen = 64. Vielleicht steht dieser Befund in einem kausalen Zusammenhang mit den starken Pigmentierungen der Haut, denen man am Ende der Schwangerschaft zu begegnen pflegt.



Schließlich wurde noch das Serum bei verschiedenen Krankheiten auf sein Oxydationsvermögen untersucht, in erster Reihe bei Nephritikern, und zwar in zehn Fällen; es stammte zum Teil von Nephrosklerosen, Nephrosen und Mischformen. Die Werte schwankten hier zwischen Phen = 4 bis 16. Es hat demnach den Anschein, als ob bei Nierenkranken die Phenolase gegenüber der Norm herabgesetzt ist. — Auch von Diabetikern und Leberkranken untersuchte ich das Serum und fand hier die gleichen Werte wie beim Normalen. Es wäre noch von Interesse gewesen, auch das Blut von Individuen mit starker Pigmentierung und von Fällen von Morbus Adissonii zu prüfen; leider aber standen mir solche Fälle im Augenblick nicht zur Verfügung.

Zusammenfassend hat sich also ergeben:

1. Im menschlichen Serum findet sich eine Phenolase, die nur befähigt ist, zweifach hydroxylierte Benzolderivate zu oxydieren, nicht dagegen solche mit einer Hydroxylgruppe.

2. Durch längeres Stehen des Serums bei verschiedenen Temperaturen nimmt die oxydierende Kraft des Serums nicht ab; ebensowenig wird sie geschwächt durch halbstündiges Erwärmen auf 56° C.

3. Die Dialyse ist ohne Einfluß auf die Serumphenolase.

4. Die Werte des normalen Serums schwanken zwischen Phen = 8 bis 32; ähnliche Werte finden sich schon im Säuglingsalter. Bei Nierenerkrankungen sind die Werte etwas niedriger, am Ende der Schwangerschaft etwas erhöht.

5. Ein Vergleich einzelner Tierarten untereinander ergab, daß am meisten Phenolase Hammelserum enthält, dann folgt das Serum von Kaninchen und Hund, und schließlich vom Meerschweinchen.

# Zur Frage nach dem Mechanismus der Darmsekretion.

## II. Mitteilung:

## Über die Einwirkung des Methylguanidins und einiger ihm verwandter Stoffe auf die Darmsekretion.

Von

**S. A. Komarow.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Riga.)

*(Eingegangen am 18. März 1924.)*

Das zuerst von *Brieger* (1) aus den Fäulnisprodukten des Pferdefleisches isolierte und von ihm zur Kategorie der Ptomaine hinzugerechnete Methylguanidin ist bekanntlich von *Gulewitsch* (2) und gleichzeitig von *Kutscher* (3) auch im *Liebig*schen Fleischextrakt aufgefunden worden. Bald darauf stellte *Krimberg* (4) das Vorhandensein dieses Stoffes im Fleische eines soeben getöteten Stieres fest, wodurch der Nachweis geführt wurde, daß das Methylguanidin als präformierter Bestandteil des Muskelgewebes anzusehen ist. Diese grundlegenden Befunde der genannten Forscher sind später auch von anderen Autoren, besonders im Laboratorium von *Gulewitsch* [*Skworzow* (5), *Smorodinzew* (6)] bestätigt und ergänzt worden, wobei es sich herausgestellt hat, daß das Methylguanidin im Muskelgewebe aller in dieser Hinsicht untersuchten Tiere (Ochs, Kalb, Pferd, Schwein, Hammel), sowie auch des Menschen enthalten ist. Ferner ist das Methylguanidin aus der Ochsenleber [*Smorodinzew* (7)] und aus dem Harn des Menschen, des Hundes und des Pferdes [*Achelis* (8), *Kutscher* und *Lohmann* (9), *Engeland* (10)] isoliert worden, und endlich ist der Nachweis erbracht, daß es auch im Blute des Hundes vorhanden ist [*Burns* und *Scharpe* (11)].

Seitdem es festgestellt worden war, daß das Methylguanidin als präformierter Bestandteil des Muskelgewebes im Organismus vorkommt, entstand natürlich auch die Frage nach der physiologischen Bedeutung dieser Substanz. Systematische Untersuchungen, welche in *Krimbergs* Laboratorium in dieser Richtung vorgenommen wurden, haben bald erwiesen, daß das Methylguanidin alle Eigenschaften der Hormone besitzt (12). Die im genannten Laboratorium von *A. Korchoff* (12)

ausgeführten Versuche haben nämlich gezeigt, daß diese Base, intravenös oder subkutan injiziert, eine bedeutende excitosekretorische Wirkung auf die Magendrüsen ausübt.

Die vorliegende Untersuchung bezweckte das Studium der eventuellen Einflüsse, welche durch das Methylguanidin auf die sekretorische Tätigkeit der Darmdrüsen ausgeübt werden könnten, was zur Aufklärung der Bedeutung dieses Stoffes im lebenden Organismus, sowie auch zur weiteren Erkenntnis des Wesens der Wechselbeziehungen zwischen dem Muskelgewebe einerseits und den Verdauungsdrüsen andererseits dienen sollte.

Bei den nachstehenden Untersuchungen bedienten wir uns folgender Präparate des Methylguanidins.

1. *Salpetersaures Methylguanidin*, welches aus dem zweiten Silberbarytniederschlag eines aus ganz frischem Rindfleisch erhaltenen und nach der Methode von *Gulewitsch* und *Krimberg* (13) fraktionierten Extraktes dargestellt worden war. Nach wiederholtem Umkristallisieren wies das Präparat den Schmelzpunkt 150° C auf.

2. *Salzsaures Methylguanidin* aus dem Präparat 1 dargestellt. Die Lösung des letzteren wurde mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der entstandene Niederschlag abgesaugt, gut gewaschen und auf die gewöhnliche Weise mit Bariumhydroxyd zersetzt; das Filtrat von Bariumphosphorwolframat mit Kohlensäure gesättigt, etwas eingeengt, filtriert; die letzten Spuren des Bariums durch verdünnte Schwefelsäure entfernt, nochmals filtriert, mit Salzsäure genau neutralisiert, bis zur Sirupdicke auf dem Wasserbade eingeengt und schließlich im Vakuumexsikkator bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

3. *Salpetersaures Methylguanidin* aus ganz reinem Kreatin genau nach den Angaben von *Gulewitsch* (2) dargestellt. Schmelzpunkt 150° C.

4. *Salzsaures Methylguanidin* aus Präparat 3, genau wie 2. dargestellt.

Die zur Injektion bestimmten Lösungen der genannten Präparate wurden stets mittels Wasser, welches unmittelbar vor der Anwendung bzw. während der Kontrollperiode des Versuchs umdestilliert worden war, zubereitet.

Die erste Reihe der Versuche wurde am Hunde Nr. 2 angestellt[1]). (Hündin, etwa 11½ kg; Darmfistel des oberen Teils des Jejunums nach *Thiry-Vella*; Magenfistel.)

Fütterung während der Versuchsperioden stets dieselbe: Hirsenbrei mit Sonnenblumenöl gekocht, ad libitum; dazu etwa 200 g Fleisch. Letzte Fütterung 11 bis 12 Stunden vor Beginn des Versuchs.

Wie aus dem Protokoll 1 ersichtlich, rief die Injektion von 0,7 g salpetersauren Methylguanidins (36 mg freie Base pro Kilogramm) eine scharf ausgeprägte, äußerst komplizierte und lang andauernde Reaktion seitens des Versuchstieres aus.

Fünf Minuten nach der Injektion wurde eine bedeutende Speichel-, Galle- und Magensaftabsonderung sichtbar. Im Laufe der ersten und zweiten Stunde steigerte sich die Magensaftabsonderung in bedeutendem Maße, während die Salivation und augenscheinlich auch die Ausscheidung der

[1]) Siehe Mitteilung I, diese Zeitschr.

Galle sich stark abschwächte. Diese Magensaft- und Speichelabsonderung währte 11 Stunden.

Auf der Höhe der Magensekretion, etwa 6 Stunden nach der Injektion, begann auch die Abscheidung des Darmsaftes, die bald an Stärke erheblich zunahm und, nur wenig in ihrer Intensität schwankend, viele Stunden dauerte, so daß wir deren Ende nicht abwarten konnten, trotzdem die Beobachtung 13 Stunden währte. Die Menge des abgeschiedenen Darmsaftes betrug für die Beobachtungszeit von 6 Stunden 20 Minuten etwa 30 ccm, wobei dieser nach der Methylguanidininjektion erzielte Darmsaft ungefähr dieselbe Fermentmenge, wie der am selben Tage erhaltene „periodische“ Saft enthielt.

Außerdem wurden abgesondert: 92 ccm Magensaft im Laufe der ersten 3½ Stunden, und nach zweistündiger Beobachtungspause noch etwa 150 ccm in den letzten $5^2/_3$ Stunden, sowie 90 + 18 ccm Speichel.

Neben der Sekretion der Verdauungssäfte waren im Laufe des ganzen Versuchs auch gewisse Veränderungen seitens des Zirkulationsapparates wahrzunehmen. Schon gegen das Ende der Methylguanidininjektion verlangsamte sich der Puls plötzlich und bedeutend (von 120 bis 70); zu gleicher Zeit erwies er sich als stark gespannt und hatte die den Hunden eigentümliche Arhythmie verloren. Im weiteren aber nahm die Pulsfrequenz wieder ganz allmählich und regelmäßig zu (bis 150), die Härte des Pulses blieb jedoch erhalten.

Scharf ausgeprägt war die Einwirkung des Methylguanidins auf den Atmungsapparat. Schon während der Injektion veränderte sich der Atmungscharakter in auffallender Weise: die Atmung verlangsamte sich ein wenig, aber nur auf kurze Zeit; die Inspirationsphase verlängerte sich, die Exspiration wurde kurz und fast krampfhaft, so daß die Atmung im allgemeinen den Eindruck einer eigenartigen Dyspnoe hervorrief. Im weiteren Verlaufe des Versuchs bewahrte die Atmung diesen Charakter — langandauernde Einatmung, abgerissene krampfhafte Ausatmung; die Atmungsfrequenz blieb ungefähr dieselbe, wie vor der Injektion. Als eine in gewissem Sinne interessante Erscheinung, welche dem Versuch einen eigenartigen Anstrich verlieh, könnte erwähnt werden, daß während der ganzen Beobachtungszeit fast jede Exspiration von so starkem Niesen begleitet war, als wenn dem Hunde Schnupftabak gegeben worden wäre; auch schnaufte und hustete der Hund oft dabei. Bei der Auskultation der Lungen hörten wir stets ein verschärftes Vesikuläratmen und bei der Ausatmung öfters feuchtes feinblasiges Rasseln; etwas seltener auch ein grobes Schnurren. Größtenteils waren diese Erscheinungen bei jeweiliger Verstärkung der Dyspnoe zu konstatieren, wobei gleichzeitig auch Niesen und Husten sich besonders häufig einstellten. Alle diese Erscheinungen können unseres Erachtens durch Bronchospasmus, teilweise vielleicht durch Laryngospasmus und durch gesteigerte Sekretion aller Drüsen des ganzen Atmungsapparates erklärt werden.

Außerdem wurden Tränenabsonderung und mehrere Male Harnentleerung beobachtet.

Endlich treten während des ganzen Versuchs auch Erscheinungen seitens des Muskelsystems zum Vorschein: ein fast kontinuierliches leichtes Zittern, öftere krampfhafte Zuckungen einzelner Muskeln und zuweilen auch größerer Muskelkomplexe, wodurch unkoordinierte krampfhafte Bewegungen in den einzelnen Gelenken hervorgerufen wurden; der Tonus der ganzen willkürlichen Muskulatur war ganz deutlich erhöht.

*Versuch*

**Hund 2, Gewicht 10,5 kg. Letzte Fütterung am**
**Angewandte Dosis des Methylguanidins**

| Zeit | Menge des Darmsaftes in ccm | Ausscheidung aus der Magenfistel | | | Menge des Speichels in ccm |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge in ccm | Gesamtacidität | HCl | |
| 12h 00′ | ↗ | — | — | | |
| 12 20 | 1,4 } Erepsin = 1,9[1]) Invertin = 1,5 | 2,5 | | | |
| 12 40 | 0 | 3,5 | | | |
| 1 00 | 0,2 | 2,0 | alkalisch | | |
| 1 20 | 0 | 0,5 | | | |
| 1 40 | 0,1 | 0 | | | |
| 1 42 | — | — | — | | ↗ |
| 1 45 | ↗ | ↗ | — | | — |
| 1 55 | 0,2 | 4,5 | 30 | 12 | 10,0 |
| 2 05 | 0 | 1,5 | 30 | 12 | 8,0 |
| 2 15 | 0 | 1,5 | 15 | 9 | 8,0 |
| 2 25 | 0 | 2,5 | 15 | 9 | 7,0 |
| 2 35 | 0 | 2,5 | 15 | 9 | 3,5 |
| 2 45 | 0 | 5,0 | 15 | 9 | 7,0 |
| 2 55 | 0 | 8,0 | 55 | 38 | 7,0 |
| 3 05 | 0 | 6,0 | 55 | 38 | 5,0 |
| 3 20 | 0 | 6,0 | 55 | 38 | 9,0 |
| 3 40 | 0 | 11,0 | 55 | 38 | 10,0 |
| 4 00 | 0,1 | 17,0 | 70 | 57 | 7,0 |
| 4 20 | 0 | 12,0 | 93 | 78 | 5,0 |
| 4 40 | 0 | 10,0 | 98 | 78 | 3,5 |
| 5 00 | 0 | 13,0 | 98 | 78 | 2,0 |
| 5 10 | 0 | 6,0 | 98 | 78 | 1,0 |
| 7 00 | — | — | — | — | — |
| 7 20 | 0,3 } Erepsin = 1,7; Invertin = 1,42 | 10,0 | 110 | 90 | ? |
| 7 40 | 0,8 | 17,0 | 110 | 90 | ? |
| 8 00 | 0,3 | 15,0 | 110 | 90 | ? |
| 8 20 | 2,4 | 14,0 | 102 | 82 | ? |
| 8 40 | 2,2 | 14,0 | 102 | 82 | — |
| 9 00 | 3,2 | 16,0 | 102 | 82 | 5,0 |
| 9 20 | 2,7 | 18,0 | 100 | 80 | 2,0 |
| 9 40 | 2,1 | 17,0 | 100 | 80 | 1,0 |
| 10 00 | 2,2 | 7,0 | 100 | 80 | 1,0 |
| 10 20 | 2,2 | 2,0 | 120 | 100 | 1,0 |
| 10 40 | 1,8 | 1,5 | 120 | 100 | 1,0 |
| 11 00 | 1,5 | 2,0 | 120 | 100 | 2,0 |
| 11 20 | 1,6 | 2,0 | 90 | 67 | 1,5 |
| 11 40 | 1,2 | 4,0 | 90 | 67 | 0 |
| 12 00 | 0,8 | 0,5 | 90 | 67 | 1,0 |
| 12 20 | 0,8 | 3,0 | 23 | 0 | 1,0 |
| 12 40 | 1,3 | 2,0 | 23 | 0 | 2,0 |
| 1 00 | 1,1 | 0 | 23 | 0 | 0 |
| 11 00 | — | — | — | — | — |
| 12 30 | 4,2 | 7,0 | — | Kongo stark positiv | — |

[1]) In diesem Versuch wie in den weiteren wurde der Fermentgehalt auf folgende Weise bestimmt.
*Erepsin:* 0,5 ccm Darmsaft + 20,0 ccm Wittepeptonlösung (2 proz.) + etwa 1,0 Toluol bei + 38° C währ
*Lipase:* 0,5 ccm Darmsaft + 10,0 ccm Monobutyrinlösung (1 proz.) + etwa 1,0 Toluol bei + 38° C währ
*Invertin:* 0,5 ccm Darmsaft + 10,0 ccm Saccharoselösung (1 proz.) + etwa 1,0 Toluol; Bestimmung
Kontrollversuche wie oben mit aufgekochtem (5 Minuten auf dem Wasserbade bei 100° C) Darms
In den Protokollen angeführte Zahlen — ccm verbrauchter Titrierlösungen.

I[1]).

vorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags.
= etwa 36 mg freier Base pro kg.

| Puls | | | Bemerkungen | |
|---|---|---|---|---|
| 95 | | 14 | | |
| 100 | | 11 | | |
| 95 | | 11 | | |
| 90 | | 11 | | |
| 95—100 | | 11 | | |
| 120 | | 11—14 | *Injektion 0,7 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat I) intravenös im Laufe von etwa $1^1/_2$ Minuten (5proz. Lösung) | |
| 70—80 | Stark gespannt und rhythmisch | 9—12 | | |
| 80—85 | | 12—14 | | Allgemeine Erregung; Muskelzittern und zuweilen krampfhafte Zuckungen; erhöhter Muskeltonus; dyspnoische Atmung |
| 90—95 | | 14 | Harnentleerung | |
| 95 | | 14 | Niesen selten | |
| 110 | | 14 | Niesen öfters | |
| 120 | | 14 | Harnentleerung | |
| 120 | | 14 | " | |
| 120 | | 14 | Niesen sehr oft | |
| 120 | | 13—18 | " " " | |
| 120 | | 13—14 | " " " | |
| 120 | | 13—18 | " " " | |
| 130 | | 14 | | |
| 130 | | 11—12 | Fast jede Exspiration von Niesen begleitet; Schnaufen und Husten sehr oft | |
| 120 | | 11—12 | | |
| 120 | | 14 | | |
| 120—145 | | 14 | | |
| 145 | | 14 | | |
| 130 | | 10 | Beobachtungspause; der Hund in einen sauberen Käfig übergeführt | |
| 140 | Stark gespannt und rhythmisch | 10—14 | Niesen sehr oft; Husten und Schnaufen zeitweise | Allgemeine Erregung; Muskelzittern und zuweilen krampfhafte Zuckungen einzelner Muskelgruppen; erhöhter Muskeltonus; fast die ganze Zeit niest, schnauft und hustet oft; aus den Nasenlöchern zeitweise Schleim; Augen voll Tränen; Dyspnoe |
| 130 | | 11—16 | | |
| 130 | | 11 | | |
| 145 | | 11 | | |
| 150 | | 12 | | |
| 145 | | 14 | | |
| 140 | | 14 | | |
| 145 | | 13 | | |
| 150 | | 14 | Bei Lungenauskultation: ein stark verschärftes Vesiculäratmen; exspiratorisches, feuchtes, feinblasiges Rasseln | |
| 145 | | 14 | | |
| 150 | | 15 | | |
| 150 | | 13—15 | | |
| 140 | | 13—15 | | |
| 145 | | 12—13 | | |
| 150 | | 12 | | |
| 140 | | 12 | Hustet, schnauft und niest sehr oft; exspiratorisches feinblasiges Rasseln, summendes Schnurren und verschärftes Vesiculäratmen | |
| 150 | | 12—14 | | |
| 145 | | 14 | Dasselbe | |
| — | | — | | |
| 120 | | 12 | | |

4 Stunden; Formoltitration mit n/10 KOH nach *Soerensen.*
4 Stunden; Titration mit n/50 KOH gegen Phenolphthalein als Indikator.
Reduktionsvermögens nach *J. Bang* in 0,1 g des Reaktionsgemisches.

Die soeben beschriebenen Erscheinungen und unter anderem auch die erhöhte Darmsekretion waren noch am nächsten Tage nach der Injektion des Methylguanidins bemerkbar; das Niesen aber konnte man noch am dritten Tage wahrnehmen.

Bei diesem Versuche ist für uns von besonderem Interesse der Umstand, daß die Steigerung der Darmsekretion nicht gleich nach der Methylguanidininjektion, sondern erst etwa 5 Stunden später zu konstatieren war. Im Gegenteil blieb während der ersten Versuchsstunden sogar die vorher beobachtete periodische Darmsekretion aus, obwohl die Einwirkung des Methylguanidins auf den Zirkulationsapparat, auf die Atmung und auf das Muskelsystem bereits schon vollständig entwickelt war, und die Absonderung des Speichels sowie auch des Magensaftes einen bedeutenden Umfang erreicht hatte. Das Ausbleiben der periodischen Darmsekretion auf den hemmenden Einfluß des Magensaftes zurückzuführen, ist in diesem Falle unmöglich; erstens, weil der abgesonderte Magensaft durch die weite Kanüle leicht und gänzlich herausfließen und daher ins Duodenum, von wo aus der Magensaft diese hemmende Wirkung auszuüben imstande gewesen wäre, überhaupt nicht hineingelangen konnte und zweitens, weil der Beginn der Darmsekretion gerade mit dem Maximum der Magensekretion in der sechsten Stunde zusammenfiel. Eher ist unseres Erachtens anzunehmen, daß die Ursache der Darmsekretionshemmung in der allzu großen Dosis des eingeführten Methylguanidins zu suchen ist, und daß die im weiteren Verlauf des Versuches stattgefundene excitosekretorische Wirkung des Methylguanidins mit einer gewissen Konzentrationsabnahme desselben im Blute in Zusammenhang zu stellen ist.

Aller Wahrscheinlichkeit nach wirkt das Methylguanidin genau ebenso auch auf die Magendrüsen ein, d. h. bei Erhöhung der Konzentration im Blute über eine gewisse Grenze hinaus beginnt dasselbe, die spezifische Tätigkeit der Magendrüsen zu unterdrücken.

In der Tat, wie aus dem Protokoll ersichtlich, begann die Sekretion des Magensaftes 5 Minuten nach der Injektion des Methylguanidins, in den ersten 10 Minuten war dieselbe bereits ziemlich lebhaft [1,35[1])], im Laufe weiterer 50 Minuten dagegen wurde sie bedeutend schwächer [0,45 — 0,22 — 0,37 — 0,37 — 0,75[1])], um nur zu Beginn der zweiten [3,4[1])] und vierten [6,8[1])] Stunde sprunghaft zu steigen; erst in der sechsten, siebenten und achten Stunde erreichte dieselbe ihr Maximum — fast gleichzeitig mit dem Höhepunkt der Darmsekretion (in der achten und neunten Stunde).

Im Laufe der ersten Stunde wurden also die sekretionserregenden Einflüsse durch sekretionshemmende abgelöst, welche ihrerseits im

---

[1]) Diese Zahlen geben die von den Magendrüsen im Laufe von je 10 Minuten abgesonderten Salzsäuremengen in Kubikzentimetern, auf $n/10$ Lösung umgerechnet, an.

folgenden gemäß der Abschwächung der Methylguanidinkonzentration im Blute wiederum durch excitosekretorische ersetzt wurden.

Für eine solche Erklärung der Sekretionskurve in diesem Falle sprechen auch die Ergebnisse weiterer Versuche mit Anwendung geringerer Dosen des Methylguanidins.

Der Versuch 2 ist annähernd ein Jahr nach dem vorherigen an demselben Hunde und bei den gleichen Versuchsbedingungen angestellt worden. Der einzige Unterschied bestand darin, daß in diesem Versuch anstatt des aus den Muskeln isolierten Methylguanidins ein synthetisches Präparat desselben in etwas geringerer Menge verwendet wurde.

Das Protokoll zeigt uns im allgemeinen dasselbe Wirkungsbild wie im Versuch 1; nur das Hemmungsstadium für die Darm- und besonders die Magensekretion ist nicht so deutlich ausgeprägt. In den ersten Stunden tritt eine enorme Magensekretion in den Vordergrund; auch andere Erscheinungen, wie Speichelfluß, Veränderungen seitens des Zirkulations- und Atmungsapparates des Muskelsystems usw. sind stark entwickelt. Auch hier konnte eine merkbare Steigerung der Darmsekretion in den ersten Stunden nach der Methylguanidininjektion nicht beobachtet werden. Eine gewisse Steigerung derselben ist nur zu Beginn der siebenten Stunde zu verzeichnen. Von großem Interesse ist der Umstand, daß alle diese Methylguanidin-Wirkungserscheinungen noch am nächsten Tage zu konstatieren waren. Unter anderem war eine bedeutende Steigerung der Darmsekretion sogar noch während der 22. bis 25. Stunde nach der Injektion wahrzunehmen, wobei dieselbe in ihrem Verlauf einen kontinuierlichen Charakter trug und daher in keinem Falle als eine spontane „periodische Sekretion" betrachtet werden kann.

Ein Blick auf die weiteren Protokolle der Versuche 3, 4 und 5, in welchen die Mengen des injizierten Methylguanidins etwas geringer waren, zeigt eine bedeutende Abweichung gegenüber den zwei vorherigen. Es fällt hier nämlich das vollständige Fehlen des in den ersteren Versuchen so klar ausgeprägten, mehrere Stunden andauernden Hemmungsstadiums für die Darmsekretion ins Auge. Sowohl die Darmsekretion als auch die Magensaft- und Speichelabsonderung tritt hier nach einer kurzen latenten Periode (5 bis 8 Minuten für die Darm- und Magensekretion und etwa 2 Minuten für die Speichelabsonderung) auf, erreicht bald eine sehr bedeutende Intensität und dauert viele Stunden. Der in diesen Fällen nach der Methylguanidininjektion abgesonderte Darmsaft erwies sich als mindestens ebenso fermentreich, wie der an demselben Tage erhaltene „periodische".

Alle übrigen Wirkungserscheinungen des Methylguanidins, wie z. B. seitens der Zirkulations- und Atmungsapparate, sowie seitens des Muskelsystems waren nicht nur qualitativ, sondern auch dem Entwicklungsgrade nach dieselben, wie in den ersteren Versuchen. Nur die Dauer der Methylguanidinwirkung in diesen Versuchen war entsprechend der kleineren Größe der angewandten Gaben kürzer.

*Versuc*

**Hund 2, Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung a**
**Angewandte Dosis des Methylguanidin**

| Versuchsstunde | Zeit | Darmsaft: Menge in ccm | Darmsaft: Fermentgehalt | Ausscheidung aus der Magenfistel: Menge in ccm | Gesamtacidität | HCl |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrollperiode | 9h40′ | ↗ A | *Darmsaft A:* Erepsin = 2,1 Lipase = 1,5 | — | — | |
| | 10 00 | 0,2 | | Schleim | alkalisch | |
| | 10 20 | 0 | | " | — | |
| | 10 40 | 0,9 | | " | — | |
| | 11 00 | 1,1 | | " | — | |
| | 11 20 | 0 | | " | — | |
| | 11 30 | 0 | | " | — | |
| | 11 30–31′ | — | | " | — | |
| | 11 34′ | ↗ B | *Darmsaft B:* Erepsin = 2,0; Lipase = 0,8 | ↗ | — | |
| | 11 55 | 0,8 | | 18,0 | | |
| 1 | 12 15 | 0 | | 86,0 | 104 | 98 |
| | 12 35 | 0 | | 110,0 | | |
| | 12 55 | 0 | | 75,0 | | |
| 2 | 1 15 | 0 | | 40,0 | 106 | 98 |
| | 1 35 | 0,8 | | 30,0 | | |
| | 1 55 | 0,5 | | 40,0 | | |
| 3 | 2 15 | 0,5 | | 40,0 | | |
| | 2 35 | 0,9 | | 45,0 | 98 | 90 |
| | 2 55 | 0,9 | | 30,0 | | |
| 4 | 3 15 | 0,8 | | 30,0 | | |
| | 3 35 | 0,6 | | 28,0 | | |
| | 3 55 | 0,6 | | 20,0 | | |
| 5 | 4 15 | 0,7 | | 18,0 | | |
| | 4 35 | 0,5 | | 20,0 | | |
| | 4 55 | 0,9 | | 19,0 | | |
| 6 | 5 15 | 0,8 | | 19,0 | 88 | 22 |
| | 5 35 | 0,3 | | 19,0 | | |
| | 5 55 | 0,6 | | 12,0 | | |
| 7 | 6 15 | 1,6 | | 13,0 | | |
| | 6 35 | 2,1 | | 14,0 | | |
| | — | — | | — | | |
| | 10h40 | ↗ C | *Darmsaft C:* Erepsin = 2,0; Lipase = 0,9 | — | Fistel offen; Magensaft nicht quantitativ gesammelt | |
| | 11 00 | 0,1 | | — | | |
| 23 | 11 20 | 1,2 | | — | | |
| | 11 40 | 1,3 | | — | | |
| | 12 00 | 0,7 | | — | | |
| 24 | 12 20 | 1,7 | | — | | |
| | 12 40 | 0,9 | | — | | |
| | 1 00 | 1,6 | | — | | |
| 25 | 1 20 | 1,6 | | — | | |
| | 1 40 | > 0,6*) | | — | | |
| | 2 00 | > 0,8*) | | — | | |
| 26 | 2 20 | 1,0 | | — | | |
| | 2 40 | 0,7 | | — | | |

?.

ʀorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags.
= etwa 29 mg freier Base pro kg.

| Puls | | Bemerkungen | |
|---|---|---|---|
| 95 | Gewöhnliche Arhythmie | | |
| 95 | | | |
| 95 | | | |
| 95 | | | |
| 95 | | | |
| 95 | | | |
| 95 | | | |
| 120—70 | | *Injektion 0,6 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) intravenös (5 proz. Lösung) | |
| 90 | Stark gespannt, rhythmisch | | |
| 90 | | Niesen oft | |
| 90 | | | Allgemeine Erregung; Muskelzittern, zuweilen krampfhafte Zuckungen einzelner Muskelgruppen, erhöhter Muskeltonus; dyspnoische Atmung, langdauernde Inspiration, abgerissene krampfhafte Exspiration die ganze Zeit; Augen voll Tränen, aus den Nasenlöchern zeitweise Schleim; starker Speichelfluß |
| 90 | | | |
| 90 | | | |
| 95—105 | | | |
| 105—120 | | | |
| 120 | | | |
| 130 | | Fast jede Exspiration von Niesen begleitet; Husten und Schnaufen sehr oft | |
| 135—150 | | | |
| 150 | | | |
| 160 | | | |
| 170 | | | |
| 170 | | | |
| 170 | | | |
| 180 | | | |
| 190 | | | |
| 200 | | | |
| 210 | | | |
| 210 | | Niest, schnauft und hustet etwas seltener | |
| 210 | | | |
| 220 | | | |
| — | | Beobachtungspause 14 Stunden (Hund in sauberen Käfig übergeführt; Wasser verabreicht) | |
| 120—130 | | | Leichtes Muskelzittern, erhöhter Muskeltonus; zeitweise Salivation |
| — | | | |
| — | | | |
| — | | | |
| — | | Bedeutende Salivation | |
| — | | | |
| 130 | | | |
| — | | | |
| — | | Niesen selten | |
| — | | *) Ein gewisser Teil des Darmsaftes ist verloren gegangen | |
| — | | | |
| — | | Niesen ziemlich oft | |
| 130—135 | | Schluckt Speichel, Appetit ausgezeichnet | |



*Versuch*

Hund 2, Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung an

Angewandte Dosis des Methylguanidin

| Versuchsstunde | Zeit | Darmsaft: Menge in ccm | Darmsaft: Fermentgehalt | Ausscheidung aus der Magenfistel: Menge in ccm | Gesamtacidität | HCl | Pepsin nach *Fuld* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 9h00′ | — | | — | — | | |
| | 9 20 | 0 | | 8,0 | sauer | | |
| | 9 40 | 2,0 | | 3,0 | „ | | |
| Kontrollperiode | 10 00 | 0 | Erepsin = 1,6 Invertin = 1,44 | 0,5 | „ | | |
| | 10 20 | 0 | | 2,0 | „ | | |
| | 10 40 | 0 | | 2,0 | alkalisch | | |
| | 11 00 | 0 | | 2,0 | „ | | |
| | **11h00—01′** | — | | — | — | | |
| | 11h02′ | — | | — | — | | |
| | 11 05 | ↗ | | ↗ | — | | |
| | 11 20 | > 0,6 [1]) | | > 6,0 [1]) | 20 | 10 | 4 |
| 1 | 11 40 | > 0,2 [1]) | | 78,0 | 78 | 70 | 32 |
| | 12 00 | 0,8 | | 60,0 | | | |
| | 12 20 | 1,6 | | 70,0 | | | |
| 2 | 12 40 | 1,2 | | 60,0 | 96 | 86 | 32 |
| | 1 00 | 1,5 | | 60,0 | | | |
| | 1 20 | 1,7 | | 36,0 | | | |
| 3 | 1 40 | 1,6 | | 46,0 | 90 | 60 | 32 |
| | 2 00 | 1,2 | | 44,0 | | | |
| | 2 20 | 1,2 | | 35,0 | | | |
| 4 | 2 40 | 1,5 | Invertin = 1,40 | 44,0 | 56 | 42 | 32 |
| | 3 00 | 3,3 | | 30,0 | | | |
| | 3 20 | 1,1 | | 16,0 | | | |
| 5 | 3 40 | 1,1 | | 14,0 | | | |
| | 4 00 | 1,6 | Erepsin = 1,6 | 18,0 | | | |
| | 4 20 | 1,7 | | 22,0 | 84 | 76 | 64 |
| 6 | 4 40 | 0,7 | | 8,0 | | | |
| | 5 00 | 0,5 | | 3,0 | | | |
| | 5 20 | 0,6 | | 2,0 | | | |
| 7 | 5 40 | 0,2 | | 3,0 | 52 | 44 | 32 |
| | 6 00 | 0 | | 2,0 | | | |

[1]) Ein gewisser Teil des Sekrets ist verloren gegangen.

3.

vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

= etwa 25 mg freier Base pro Kilogramm.

| Menge des Speichels in ccm | Puls | Atmung | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| | 105 | 12 | Beginn der Beobachtung |
| | 95 | 11 | |
| | 100 | 11 | |
| | 110 | 10 | |
| | 100 | 10 | |
| | 105 | 12 | |
| | 105 | 10 | |
| | 105—70—75 | 12—9 | *Injiziert 0,5 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) intravenös (5 proz. Lösung) |
| ↗ | 90 | 14 | Beleckt sich, niest ziemlich oft |
| — | 95 | 14 | Augen geschlossen, Tränenabsonderung |
| > 30,0 | 95 | 14 | |
| 30,0 | 100 | 14 | Lungenauskultation: stark geschärftes Vesikuläratmen; Schnurren |
| — | 95—100 | 14 | |
| 8,0 | 98 | 14—20 | |
| 7,0 | 95 | 25—14 | |
| — | 95 | 11—14 | Tränenabsonderung etwas schwächer |
| 7,0 | 100 | 14 | |
| 10,0 | 95—100 | 14—16 | |
| — | 100—115 | 14 | |
| 3,0 | 120—130 | 14 | |
| 10,0 | 130 | 14 | Niesen etwas seltener |
| 1,0 | 130 | 14—16 | |
| 1,0 | 150 | 14—12 | |
| 2,0 | 145—150 | 12 | Niesen selten |
| 1,0 | 160—165 | 12—14 | |
| 2,0 | 190 | 14 | 4h15′ 200,0 Solut. physiol. Na Cl per Rectum eingeführt |
| — | 170—145 | 14—12 | |
| 2,0 | 140—125 | 12 | Niesen selten |
| — | 120 | 12—14 | 5h30′ 300,0 Solut. physiologische Na Cl per Rectum eingeführt, |
| — | 120 | 12—10 | |
| 1,0 | 120 | 10 | Appetit gut |

(Bracketed remark, rows "Augen geschlossen" to 3,0/120—130:) Große allgemeine Erregung, Muskelzittern, deutlich erhöhter Muskeltonus; dispnoische Atmung (langdauernde Inspiration, kurze krampfhafte Exspiration); fast jede Exspiration von starkem Niesen begleitet; öfteres Husten und Schnaufen; Schleim aus den Nasenlöchern

(Bracketed remark, rows 10,0/130 to end:) Allgemeine Erregung viel geringer; leichtes Muskelzittern und gesteigerter Muskeltonus; dyspnoische Atmung nicht so stark ausgeprägt

*Versuch*

Hund 2, Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung am

Angewandte Dosis des Methylguanidins

| Versuchsstunde | Zeit | Darmsaft: Menge in ccm | Darmsaft: Fermentgehalt | Ausscheidung aus der Magenfistel: Menge in ccm | Gesamtacidität | HCl | Pepsin nach *Fuld* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1h40′ | — | | — | — | | |
| | 2 30 | 0 | | Schleim | alkalisch | | |
| | 2h32—34′ | — | | — | — | | |
| | 2h37′ | — | | — | — | | |
| | 2 44 | ↗ | | ↗ | sauer | + | |
| 1 | 3 00 | 1,8 | Erepsin = 2,7 | 13,0 | 88 | 84 | 16 |
| | 3 20 | 0,8 | | 21,0 | 124 | 120 | 32 |
| | 3 40 | 0,9 | | 29,0 | 140 | 136 | 50 |
| | 4 00 | 0,9 | | 45,0 | 140 | 136 | 65 |
| 2 | 4 20 | 1,0 | | 42,0 | 144 | 140 | 65 |
| | 4 40 | 0,8 | | 35,0 | 140 | 134 | 65 |
| | 5 00 | 1,2 | | 23,0 | 120 | 116 | 65 |
| 3 | 5 20 | 1,6 | Erepsin = 3,1 | 16,0 | 84 | 80 | 65 |
| | 5 40 | 1,6 | | 12,0 | 70 | 50 | 125 |
| | 6 00 | 1,8 | | 12,0 | 60 | 32 | 125 |
| 4 | 6 20 | 2,0 | | 10,0 | | | |
| | 6 40 | 2,2 | | 20,0 | 60 | 32 | 125 |
| | 7 00 | 2,2 | Erepsin = 2,3 | 20,0 | | | |
| 5 | 7 20 | 2,0 | | 36,0 | | | |
| | 7 40 | 2,1 | | 24,0 | 100 | 85 | 65 |
| | 8 00 | 1,3 | Erepsin = 2,1 | 12,0 | | | |
| 6 | 8 20 | 1,8 | | 8,0 | | | |
| | 8 40 | 1,6 | | 4,0 | 92 | 72 | 125 |
| | 9 00 | 1,2 | Erepsin = 2,5 | 4,0 | | | |
| 7 | 9 20 | 1,0 | | 5,0 | | | |
| | 9 40 | 0 | | 3,0 | 16 | 0 | 65 |
| | 10 00 | 0 | | 3,0 | | | |
| | 11 00 | 0,6 | | 7,0 | 25 | 0 | 65 |
| | 12 00 | 0,1 | | 8,0 | 92 | 76 | 65 |
| | 1 30 | 2,5 | | 30,0 | 92 | 76 | 65 |

4.

vorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags.

= etwa 25 mg freier Base pro Kilogramm.

| Speichel in ccm | Puls | Atmung | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| — | 95—105 | 11 | Beginn der Beobachtung |
| — | 95—105 | 12 | Puls, gewöhnliche Arhythmie |
| — | 70 | 9 | *Injiziert 0,5 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) intravenös 5 proz. Lösung |
| ↗ | 70 | 10 | 2h40′ Muskelzittern; Niesen |
| — | 70 | 10 | Augen geschlossen; Tränenausscheidung |
| 28,0 | 80 | 11 | Lungenauskultation: zahlreiche pfeifende und summende Schnurren, verschärftes Vesikuläratmen |
| 5,0 | 80 | 11—12 | |
| 2,0 | 80 | 11—12 | |
| — | 85 | 12 | Bei Lungenauskultation dasselbe |
| — | 85 | 13 | |
| — | 90 | 13 | |
| 2,0 | 95 | 13 | Bei Lungenauskultation dasselbe |
| 5,0 | 85 | 13 | |
| 1,0 | 95 | 13 | 5h30′ Lungenauskultation, verschärftes Vesikuläratmen |
| 1,0 | 85 | 10—12 | |
| — | 90 | 13 | |
| 2,0 | 95 | 12 | Lungenauskultation, verschärftes Vesikuläratmen |
| — | 100 | 10 | |
| 1,0 | 95—120 | 12 | |
| — | 95—115 | 13 | |
| 1,0 | 120 | 12 | Niesen etwas seltener |
| 3,0 | 100—110 | 12 | |
| 1,0 | 105—114 | 11—13 | Lungenauskultation, verschärftes Vesikuläratmen |
| 2,0 | 105 | 12 | |
| — | 120 | 12 | 9h30′ 350 ccm 0,85 proz. Lösung NaCl per Rektum eingeführt |
| — | 120 | 12 | |
| — | 105 | 12 | |
| 1,0 | 105-90 | 12 | |
| — | 100-130 | 12 | Niest selten |
| — | 110-115 | 12 | Appetit gut |

Puls, bracket from 70 (2h40′) to 105: Regulär und sehr stark gespannt

Puls, bracket from 120 (9h30′) to 110-115: Rhythmisch und stark gespannt

Bemerkungen, bracket from "Augen geschlossen" to 95—115: Allgemeine Erregung; Muskelzittern; Muskeltonus deutlich gesteigert; typische dyspnoische Atmung; fast jede Exspiration vom Niesen begleitet. Husten und Schnaufen sehr oft; Schleim aus den Nasenlöchern; bedeutende Tränenausscheidung

Bemerkungen, bracket from "Niesen etwas seltener" to end: Allgemeine Erregung nicht so deutlich bemerkbar; Muskelzittern u. gesteigerter Muskeltonus; Husten und Schnaufen viel seltener

### *Versuch 5.*

Hund 2, Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.
Angewandte Dosis des Methylguanidins = etwa 20 mg pro Kilogramm Gewicht.

| Versuchsstunde | Zeit | Darmsaft | | Ausscheidung aus der Magenfistel | | | | Speichel | Puls | Atmung | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menge ccm | Fermentgehalt | Menge ccm | Gesamtacidität | HCl | Pepsin nach *Fuld* | Speichel ccm | | | |
| | 11h00′ | — | | — | — | | | — | 72 | 12 | Beginn d. Beobachtg. |
| | 11 20 | 1,5 | Erepsin = 3,4 Invertin = 1,8 | 3,0 Schleim | alkalisch | | | 5,0 | 72 gewöhnliche Arhythmie | 12 | Knurren i. Gedärmen |
| | 11 40 | 0,5 | | 3,0 | | | | 0 | 70 | 12 | |
| | 12 00 | 0,3 | | 1,0 | | | | 0 | 70 | 12 | |
| | 12 20 | 0 | | 0 | | | | 0 | 75 | 12 | |
| | 12 40 | 0,5 | | 3,0 | | | | 0 | 75 | 12 | |
| | 1 00 | 0,7 | | 1,0 | | | | 2,0 | 75 | 12 | |
| | 1h01–02′ | — | | — | — | | | — | 60 rhythmisch, stark gespannt | 11 | *Injektion 0,33 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat II) intravenös (5 proz. Lösung) |
| | 1h03′ | — | | — | — | | | ↗ | 65 | 12 | Beleckt sich; niest |
| | 1 08 | ↗ | | ↗ | — | | | — | 65 | 12 | Tränenausscheidung |
| | 1 20 | 0,6 | | 24,0 | | | | 14,0 | 65 | 12 | |
| | 1 40 | 0,8 | | 33,0 | 62 | 48 | 65 | 1,0 | 60 | 12 | Allgemeine Erregung; Muskelzittern, gesteigerter Muskeltonus, dyspnoische Atmung; Niesen, Husten u. Schnaufen sehr oft; Tränenabsonderung |
| 1 | 2 00 | 1,1 | | 48,0 | | | | 0 | 70 | 12 | |
| | 2 20 | 1,5 | | 30,0 | | | | 1,0 | 70 | 12 | |
| 2 | 2 40 | 1,3 | | 25,0 | 96 | 78 | 125 | 3,0 | 70 | 11 | |
| | 3 00 | 0,4 | | 15,0 | | | | 8,0 | 70 | 12 | |
| | 3 20 | 0,7 | | 10,0 | | | | 2,0 | 70 | 12 | |
| 3 | 3 40 | 1,4 | Erepsin = 3,4 Invertin = 2,0 | 9,0 | 54 | 38 | 250 | 2,0 | 70 | 11 | Niesen oft |
| | 4 00 | 1,1 | | 5,0 | | | | 2,0 | 70 | 12 | |
| | 4 20 | 1,0 | | 7,0 | | | | 2,0 | 70 | 11 | |
| 4 | 4 40 | 1,0 | | 9,0 | 26 | 10 | 125 | 2,0 | 70 | 10 | |
| | 5 00 | 0,9 | | 6,0 | | | | 2,0 | 70 | 11 | Niesen (etwa 50 mal) |
| | 5 20 | 1,1 | | 7,0 | | | | 2,0 | 85—80 | 11 | |
| 5 | 5 40 | 0,8 | | 2,0 | 32 | 18 | 125 | 0 | 70—80 | 10 | |
| | 6 00 | 1,2 | | 5,0 | | | | 8,0 | 80 | 10 | |
| | 6 20 | 0,6 | | 4,0 | | | | 1,0 | 90 | 10 | |
| 6 | 6 40 | 0,1 | | 3,0 | 24 | 14 | 32 | 2,0 | 80—90 | 11 | Niesen (12 mal) |
| | 7 00 | 0,6 | | 4,0 | | | | 1,0 | 70 | 10 | |
| | 7 20 | 0,2 | | 3,0 | 24 | 14 | 32 | 1,0 | 70 | 10 | Fast jede Exspiration von Niesen begleitet |

Aus der vergleichsweisen Gegenüberstellung der Ergebnisse der Versuche 1 und 2 einerseits und der Versuche 3, 4 und 5 andererseits müssen wir die Schlußfolgerung ziehen, daß die Steigerung der angewandten Dosis des Methylguanidins über eine gewisse Grenze hinaus (für unseren Versuchshund Nr. 2 augenscheinlich mehr als 0,025 freie Base pro Kilogramm) keine Steigerung des Effektes im Sinne einer Magen- und besonders einer Darmsekretion nach sich zieht, sondern im Gegenteil in gewissem Grade sogar sekretionshemmend einwirkt.

Wie aus den angeführten Versuchen ersichtlich, übte das Methylguanidin in den dort angewandten Dosen (20 bis 36 mg pro Kilogramm) neben einer excitosekretorischen Wirkung auf die verschiedensten Drüsenapparate (auf die Darm- und Magendrüsen, Speichel- und Tränendrüsen, Schleimdrüsen der Luftwege und augenscheinlich auch auf die Nieren) auch eine so stark ausgeprägte Wirkung auf einige andere Systeme aus, daß das allgemeine Wirkungsbild als eine wahre Vergiftung anzusehen ist. Deswegen erscheint es für uns als höchst wichtig, in weiteren Versuchen die physiologische Aktivität des Methylguanidins in der uns interessierenden Richtung, unter Anwendung von Gaben, welche die unterschwelligen nur wenig übertreffen, zu untersuchen.

Die Mehrzahl der diesbezüglichen Versuche wurde am Hund 3[1]) (*Thiry-Vella*sche Fistel des obersten Jejunumteils) ausgeführt.

In diesen Versuchen (6, 7, 8 und 9) wurde das Methylguanidin in Gaben von 18 bis 9 mg pro Kilogramm nüchternen Tieren bei völlig entwickelter periodischer Darmsekretion einverleibt. Die Reaktion seitens des Organismus war, wie aus den Protokollen zu ersehen, stets die gleiche.

Die ersten Zeichen der Methylguanidinwirkung sind auch hier schon während der Einverleibung wahrnehmbar, im Falle das Methylguanidin sei intravenös injiziert. Die Atmung wird nämlich viel tiefer und etwas langsamer; gleichzeitig (gegen Ende der Injektion) verlangsamt sich der Puls plötzlich, wird vollkommen rhythmisch und erscheint stark gespannt. Schon etwa 2 Minuten nach der Injektion fängt der Hund an sich zu belecken; dies geschieht anfangs nur selten, später immer häufiger und ist als Folge der gesteigerten Speichelabsonderung anzusehen. Zu dieser Zeit können wir auch eine Steigerung des Muskeltonus und das Auftreten von Muskelzittern beobachten. Was die Darmsekretion anbelangt, so tritt aus den Fistelöffnungen der erste Tropfen des Darmsaftes nach einer latenten Periode von etwa 5 bis 7 Minuten hervor; darauf nimmt die Sekretion stets einen kontinuierlichen Charakter an, wobei sie zuweilen einen deutlich regelmäßigen Verlauf aufweist (vgl. Versuche 6, teilweise 7 und 8), in anderen Fällen dagegen zwar ebenso kontinuierlich, jedoch in ihrer Intensität als in ziemlich weiten Grenzen schwankend erscheint (vgl. Versuch 9). Eine derartige Darmsekretion währt 2 bis 3 Stunden und im Laufe dieser Zeit sondern sich etwa 7 bis 9 bis 10 ccm Darmsaft ab, welcher mindestens ebenso fermentreich ist, wie der „periodische". Der bei Anwendung von Methylguanidin in Dosen 18 bis 9 mg pro Kilogramm erzielte Sekretionseffekt hängt in diesen Versuchen, welche übrigens voneinander durch mehrere Tage getrennt waren, von der Menge der injizierten Substanz in merkbarem Grade nicht ab.

Die allgemeine Wirkung des Methylguanidins war auch in diesen Fällen grundsätzlich — qualitativ — die gleiche, wie in den vorhergehenden bei Anwendung von toxischen Dosen ausgeführten Versuchen,

[1]) Siehe Mitteilung I, diese Zeitschr.

*Versuch 6.*

Hund 3. Gewicht 7½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis des Methylguanidins = 18 mg freie Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes in ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 10h 15′ | — | — | | Beginn der Beobachtung |
| 11 15 | 0 | — | Gewöhnliche Arhythmie | |
| 11 30 | 1,5 | 95 | | |
| 11 45 | 0,1 | — | | |
| 12 30 | 0 | — | | |
| 12 45 | 2,4 | — | | |
| 1 45 | 0 | 95 | | |
| 2 00 | 0,4 | — | | |
| 2 15 | 0 | — | | |
| 2 30 | 0 | 95 | | |
| **2 35–36′** | 0 | 95—60 | Stark gespannt u. vollkommen rhythmisch | *Injektion 0,2 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) intravenös (5 proz. Lösung) |
| 2 37′ | — | 70 | | Niest; beleckt sich |
| 2 40 | ↗ | 75 | | Beginn der Darmabsonderung |
| 2 55 | 1,3 | 85 | | |
| 3 10 | 1,4 | 90 | | |
| 3 25 | 1,2 | 95 | | Ruhige Atmung; leichtes Muskelzittern; erhöhter Muskeltonus; beleckt sich und niest oft; häufige Darmbewegungen in den Fistelöffnungen und Knurren in Gedärmen |
| 3 40 | 2,1 | 105 | | |
| 3 55 | 1,8 | 110 | | |
| 4 10 | 1,1 | 105 | | |
| 4 25 | 0,4 | 95 | | |
| 4 40 | 0,1 | 95 | | |
| 4 55 | 0 | 95 | | Beleckt sich und niest nicht mehr |
| 5 10 | 1,1 | 95 | Gewöhnliche Arhythmie | |
| 5 25 | 0,2 | 95 | | |
| 5 40 | 0 | 95 | | |
| 5 55 | 0 | 95 | | |
| 6 10 | 0,9 | 95 | | |
| 6 25 | 0,1 | 95 | | |
| 6 40 | 0,1 | 95 | | |
| 7 00 | 0 | 95 | | Appetit gut |

jedoch sehr viel schwächer ausgeprägt. Auch hier konnten wir nämlich Pulsverlangsamung, Steigerung seiner Spannung sowie Veränderung seines Rhythmus im Sinne des Verschwindens der den Hunden eigentümlichen Arhythmie und des Auftretens einer vollständigen Regelmäßigkeit und außerdem typische Veränderungen seitens des Atmungsrhythmus, Muskelzittern und Steigerung des Muskeltonus wahrnehmen[1]).

[1]) Es ist auffallend, daß beim Hunde 3 Niesen verhältnismäßig nur sehr selten zu beobachten war. Augenscheinlich hängt in dieser Beziehung vieles von der Individualität des Hundes ab. Unter fünf offenbar vollständig gesunden Hunden, denen ich zu verschiedenen Zwecken Methylguanidin einzuführen hatte, reagierten zwei sogar auf minimalste Gaben dieses Stoffes regelmäßig durch Niesen in scharf ausgeprägter Weise (fast jede Exspiration von Niesen begleitet), während bei den anderen diese Erscheinung nur ziemlich selten auftrat.

*Versuch 7.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis des Methylguanidins = 18 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes in ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 10h 00′ | — | — | | Beginn der Beobachtung |
| 10 15 | 0 | 95—100 | Gewöhnliche Arhythmie | |
| 10 30 | 3,2 | — | | Knurren in Gedärmen |
| 10 45 | 0 | — | | |
| 11 00 | 0 | — | | |
| 11 15 | 0 | 95—100 | | |
| 11 30 | 0 | — | | |
| 11 45 | 0 | — | | |
| 12 00 | 1,9 | 95—100 | | |
| **12 13–14′** | — | 95—100 | | *Injektion 0,2 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) Subkutan (5 proz. Lösung) |
| 12 15′ | — | 90—88 | Stark gespannt und vollkommen regulär | Beginn der Speichelausscheidung |
| 12 20 | ↗ | 90 | | Beginn der Darmsekretion |
| 12 30 | 0,4 | 70 | | Beleckt sich oft; Deutlich erhöhter Muskeltonus; Muskelzittern; ruhige Atmung; häufige peristaltische Bewegungen der in die Haut eingenähten Darmteile; Knurren in Gedärmen oft |
| 12 45 | 1,2 | 80 | | |
| 1 00 | 0,8 | 75 | | |
| 1 15 | 0,3 | 75 | | |
| 1 30 | 0,7 | 75 | | |
| 1 45 | 0,6 | 75 | | |
| 2 00 | 0,5 | 75 | | |
| 2 15 | 0,7 | 75 | | Beleckt sich selten |
| 2 30 | 1,0 | 65 | | |
| 2 45 | 0,6 | 60 | | |
| 3 00 | 0,9 | 60 | | |
| 3 15 | 0,4 | 60 | | |
| 3 30 | 0 | 65 | | |
| 3 45 | 0 | 70 | | |
| 4 00 | 0,3 | 75—80 | | Beleckt sich zeitweise |
| 4 15 | 0,3 | 75 | | Puls — gewöhnliche Arhythmie |
| 4 30 | 0,1 | 75 | | |

Die Einführungsart übt keinen besonders wesentlichen Einfluß auf das Wirkungsbild des Methylguanidins aus; nur das ganze Wirkungsbild entwickelt sich bei intravenöser Injektion schneller, auch die latente Periode ist in diesen Fällen kürzer (3 statt 7 Minuten; 7 statt 25 Minuten bei gleich großen Dosen).

Aus den Versuchen 10 und 11 geht hervor, daß die minimale, die Darmsekretion noch beeinflussende Dosis des Methylguanidins zwischen 7 und 5 mg pro Kilogramm zu suchen ist. Das Methylguanidin in einer Menge von 7 mg pro Kilogramm eingeführt, übt bei nüchternen Tieren keine sichtbare Wirkung im Sinne einer Steigerung der sich periodisch absondernden Darmsaftmenge aus, verändert jedoch noch sehr deutlich die Sekretionskurve. Unmittelbar nach der Injektion verschwindet die in der Kontrollperiode so deutlich ausgeprägte periodische Darm-



*Versuch 8.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis des Methylguanidins = etwa 10 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Darmsaft Menge ccm | Darmsaft Fermentgehalt | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 12h 00′ | — | | 85 | | |
| 12 15 | 0 | | 90 | | |
| 12 30 | 3,6 | | 90 | | Knurren in Gedärmen |
| 12 45 | 0,2 | | 80 | | • |
| 1 00 | 0 | | 80 | | |
| 1 15 | 0 | Lipase = 0,8 | 80 | | |
| 1 30 | 0,1 | | 80 | | |
| 1 45 | 0 | | 75 | | |
| 2 00 | 0 | | 80 | | |
| 2 15 | 0 | | 75 | | |
| 2 30 | 3,3 | | 80 | | Knurren in Gedärmen |
| 2 45 | 0 | | 90 | | |
| 2 50—51′ | 0 | | 85 | | *Injektion 0,11 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) subkutan |
| 2 54′ | — | | 120 | Deutlich gesteigerte Spannung | Fängt an sich zu belecken |
| 3 00 | 0 | | 120 | | Beleckt sich zeitweise; häufige Darmbewegungen in den Fistelöffnungen und Knurren in Gedärmen |
| 3 15 | ↗ | | 110 | | |
| 3 30 | 0,8 | | 110 | | |
| 3 45 | 1,0 | | 95 | | |
| 4 00 | 1,0 | | 110 | | |
| 4 15 | 0,7 | | 100 | | |
| 4 30 | 0,7 | | 110 | | |
| 4 45 | 1,6 | | 100 | | |
| 5 00 | 1,0 | Lipase = 2,4 | 100 | | |
| 5 15 | 1,4 | | 95 | | |
| 5 30 | 1,0 | | 105 | | |
| 5 45 | 0,1 | | 100 | | |
| 6 00 | 0 | | 100 | | |
| 6 15 | 0,5 | | 100 | | |
| 6 30 | 0,3 | | 100 | | |
| 6 45 | 0 | | 100 | | |
| 7 00 | 0 | | 100 | | Beleckt sich zeitweise |
| 7 15 | 0,5 | | 100 | | |
| 7 30 | 0,9 | | 100 | | |
| 7 45 | 0,2 | | 95 | | |
| 8 00 | 0,3 | | 100 | | |
| 8 15 | 0,3 | | 100 | | |

11h 15′ starker Durchfall, Ausscheidung großer Mengen eines dünnflüssigen Darminhaltes, Speichelfluß, Knurren in Gedärmen.

sekretion, um gleichzeitig mit dem Auftreten anderer typischer Methylguanidin-Wirkungserscheinungen durch eine obwohl schwache, jedoch regelmäßig kontinuierliche Sekretion ersetzt zu werden; die letztere nimmt nach etwa 2 Stunden wiederum einen periodischen Charakter an, wobei gleichzeitig auch die anderen Erscheinungen verschwinden.

*Versuch 9.*

Hund 3. Gewicht 7½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis des Methylguanidins = etwa 9 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes in ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 9h 00′ | — | 95 | Gewöhnliche Arhythmie | Beginn der Beobachtung |
| 10 00 | 0 | — | | |
| 11 00 | 0 | — | | |
| 11 30 | 0 | 95 | | |
| 11 45 | 3,4 | — | | |
| 2 25 | 0 | — | | |
| 2 45 | 0,6 | 95 | | |
| 3 00—01′ | 0 | 95—60 | Rhythmisch und stark gespannt | *Injektion 0,125 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) *intravenös* (5 proz. Lösung) |
| 3 02′ | — | 60 | | Beleckt sich; Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Knurren in Gedärmen. |
| 3 05 | ↗ | 65 | | Beginn der Darmabsonderung; Muskelzittern; beleckt sich. |
| 3 15 | 1,2 | 65 | | Muskelzittern verstärkt sich mit jeder Minute; Darmbewegungen; Salivation. |
| 3 30 | 0 | 70 | | Muskelzittern wird schwächer. |
| 3 45 | 0,8 | 80—85 | | |
| 4 00 | 2,0 | 85 | | |
| 4 15 | 5,5 | 85 | | Ruhige Atmung; leichtes Muskelzittern und gesteigerter Muskeltonus; Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Knurren in den Gedärmen; beleckt sich oft |
| 4 30 | 0 | 85 | | |
| 4 45 | 0,3 | 80 | Gewöhnliche Arhythmie | |
| 5 00 | 0,3 | 85 | | |
| 5 15 | 0,3 | 80 | | |
| 5 30 | 0,3 | 85 | | Kein sichtbares Muskelzittern; beleckt sich selten |
| 5 45 | 0 | 85 | | |
| 6 00 | 0 | 85 | | |
| 7 00 | 0 | 85 | | |
| 8 00 | 0 | 85 | | |

In einer Dosis von 5 mg pro Kilogramm übt das Methylguanidin dagegen überhaupt keine sichtbare Wirkung mehr auf die Darmdrüsen aus, obwohl dieselbe noch eine geringe Pulsverlangsamung und eine sehr schwache Salivation hervorzurufen imstande ist.

Es muß hier erwähnt werden, daß nach den Befunden einiger Forscher [*Frank, Stern* und *Nothmann* (14)] diejenigen Dosen der Guanidine, welche eben noch Symptome zu verursachen imstande sind, bei allen geprüften Warmblütern den tödlichen äußerst nahe liegen, so daß, wenn überhaupt noch Symptome eintreten, dieselben meist tödlich sind. Unsere Versuche dagegen zeigen meines Erachtens deutlich genug, daß sogar so geringe Dosen des Methylguanidins, wie 7 bis 5 mg pro Kilogramm, die also von den tödlichen sehr weit liegen, doch schon vollkommen ausreichen, um das Erscheinen einer ganzen Reihe von Symptomen, welche im Haushalte des Organismus als unzweifelhaft wichtig gelten müssen, hervorzurufen.

Weitere Versuche (12, 13, 14) wurden angestellt, um die Wirkung des Methylguanidins auf der Höhe der Verdauung zu untersuchen.

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß bei völlig entwickeltem Verdauungsprozeß während der Kontrollperiode mehrere Stunden lang

*Versuch 10.*

Hund 2. Gewicht 13½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis des Methylguanidins = 7,3 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Darmsaft | | Ausscheidung aus der Magenfistel | | | | Puls | | Atmung | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Menge ccm | Fermentgehalt | Menge ccm | Gesamtacidität | HCl | Pepsin nach *Fuld* | | | | |
| 10h00' | — | | — | — | | | 110 | Gewöhnliche Arhythmie | 12 | Beginn d. Beobachtg. |
| 11 10 | 0 | Erepsin = 6,8 Invertin = 3,9 | 2,5 | alkalisch | | | — | | — | |
| 11 20 | 1,4 | | 0,5 | „ | | | — | | — | |
| 11 30 | 1,7 | | 1,0 | „ | | | — | | — | |
| 11 40 | 0 | | 0,5 | „ | | | 110 | | 12—13 | Ruhig |
| 11 50 | 0,2 | | 0,5 | „ | | | — | | — | |
| 12 00 | 0 | | 9,0 | Schleim alkalisch | | | — | | — | |
| 12 10 | 0 | | 10,5 | Galle | | | — | | — | |
| 12 20 | 0 | | 0,5 | Schleim | | | 110 | | 12 | |
| **12 25** | 0 | | 0,5 | Schleim alkalisch | | | 110–85 | Rhythmisch und stark gespannt | 12—10 | *Injektion 0,2 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) intravenös (5 proz. Lösung) |
| 12 30 | ↗ | | — | — | | | 85 | | 14 | Beginn der Darm- und Speichelabsonderg. |
| 12 40 | 0,4 | Erepsin = 5,0 Invertin = 3,0 | 0 | Mucosa alkalisch | | | 85 | | 15 | Schnauft; unruhig |
| 12 50 | 0,4 | | 0 | | | | 85 | | 15 | Unruhig; beleckt sich oft; Niesen zeitweise; leichtes Muskelzittern |
| 1 00 | 0,2 | | 0 | | | | 85 | | 16 | |
| 1 10 | 0,1 | | 0 | | | | 90 | | 15 | |
| 1 20 | 0,3 | | ↗ | — | + | | 90 | | 14 | |
| 1 30 | 0,2 | | 5,0 | 20 | 6 | 32 | 90 | | 14 | |
| 1 40 | 0,3 | | 1,0 | | | | 90 | | 14 | |
| 1 50 | 0,2 | | 2,0 | 35 | 15 | 65 | 90 | | 12 | |
| 2 00 | 0,3 | | 1,0 | | | | 90 | | 12 | |
| 2 10 | 0,2 | | 2,0 | | | | 95 | | 12 | |
| 2 20 | 0,4 | | 4,0 | | | | 90 | | 12 | Niesen selten |
| 2 30 | 0,4 | | 4,0 | | | | 90 | | 11 | |
| 2 40 | 0,5 | | 2,0 | | | | 95 | | 11 | Ruhig |
| 2 50 | 0 | | 2,0 | 10 | 0 | 4 | 90 | | 11 | |
| 3 00 | 0 | | 1,0 | | | | 90 | | 10 | |
| 3 10 | 0 | | 0 | — | | | 85 | | 11 | |
| 3 20 | 0 | | 0 | — | | | 85 | | 11 | |
| 3 30 | 0 | | 0 | — | | | 80 | | 11 | |
| 5 00 | 2,2 | | — | Schleim | | | 85 | | 11—12 | Von 3h30' bis 5h00' typische „periodische Sekretion" des Darmsaftes |

keine Sekretion aus der *Thiry-Vella*schen Fistel stattfindet. Daher ist gerade unter solchen Bedingungen der Effekt der Methylguanidineinverleibung im Sinne einer Darmsekretion besonders deutlich bemerkbar: 3 bis 5 Minuten nach intravenöser Injektion und nach vorherigem stundenlangen Ruhezustand der Drüsen beginnt die Absonderung des Darmsaftes, begleitet von mit bloßem Auge sichtbaren peristaltischen Bewegungen der in die Haut eingenähten Darmteile, sowie von all-

*Versuch 11.*

Hund 3. Gewicht 7,3 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis des Methylguanidins = etwa 4,6 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 10h00′ | 0 | 95—100 | Gewöhnliche Arhythmie | Beginn der Beobachtung |
| 10 15 | 0 | — | | |
| 10 30 | 0 | — | | |
| 10 45 | 0,9 | — | | Knurren in Gedärmen |
| 11 00 | 1,9 | 95—105 | | |
| 11 15 | 0 | — | | |
| 11 30 | 0 | — | | |
| 11 45 | 0 | — | | |
| 12 00 | 0 | — | | |
| 12 15 | 0 | — | | |
| 12 30 | 2,1 | 100—105 | | Knurren in Gedärmen |
| 12 45 | 0,6 | 100—95 | | *Injektion 0,05 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) subkutan (2,5 proz. Lösung) |
| 12 47 | — | 90 | | Beleckt sich selten } Puls rhythmisch, etwas stärkere Spannung |
| 12 50 | — | 95 | | Beleckt sich öfters } Puls rhythmisch, etwas stärkere Spannung |
| 1 00 | 0 | 95—110 | Gewöhnliche Arhythmie | Beleckt sich oft } Puls rhythmisch, etwas stärkere Spannung |
| 1 15 | 0 | 100—105 | | Beleckt sich seltener |
| 1 30 | 0 | 100—105 | | Beleckt sich selten |
| 1 45 | 0 | 100—95 | | |
| 2 00 | 0 | 100—95 | | |
| 2 15 | 0 | 100—95 | | |
| 2 30 | 0 | 100—95 | | |
| 2 45 | — | 100—95 | | |
| 3 00 | 0,6 | 100—95 | | Knurren in Gedärmen |
| 3 15 | 0 | 100—95 | | |
| 3 30 | 0,7 | 100—95 | | |
| 3 45 | 0 | 100—95 | | |
| 4 00 | 0 | 100—95 | | |
| 4 15 | 0 | 100—95 | | |
| 4 30 | 0 | 100—95 | | |
| 4 45 | 0 | 100—95 | | |
| 5 00 | 1,1 | 100—95 | | Knurren in Gedärmen |
| 5 15 | 0 | 100—95 | | |
| 5 30 | 0 | 100—95 | | |
| 6 00 | 0 | 100—95 | | |

mählicher Entwicklung anderer Wirkungserscheinungen, die für das Methylguanidin als typisch anzusehen sind. Doch währt diese Darmsekretion nur einige Minuten (15 bis 25 Minuten) und ist die Menge des *aus dem isolierten Darmabschnitt* abgesonderten Darmsaftes relativ geringer als die Dauer und die Menge derselben bei nüchternen Tieren. Es muß jedoch hinzugefügt werden, daß gerade in diesen Versuchen, zum Unterschiede von solchen an nüchternen Tieren bei denselben Bedingungen ausgeführten, starke Durchfälle unter Ausscheidung großer Mengen eines dünnflüssigen Darminhaltes beobachtet wurden. Diese Tatsache spricht unseres Erachtens für eine besonders lebhafte

*Versuch 12.*

Hund 3. Gewicht 7,5 kg. Angewandte Dosis des Methylguanidins = 18 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 11h00′ | — | — | | Gefüttert |
| 12 00 | — | 95—105 | Gew. Arhythmie | Beginn der Beobachtung |
| 4 00 | 0 | 95—105 | | Gefüttert |
| 6 00 | 0 | 95—105 | | |
| **6 00–01′** | — | 105—70 | Regulär und stark gespannt | *Injektion 0,25 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) intravenös (5 proz. Lösung) |
| 6 03′ | ↗ | 70 | | Beginn der Darm- und Speichelsekretion |
| 6 18 | 2,1 („M“) | 70 | | Beleckt sich oft; Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Knurren in Gedärmen |
| 6 33 | 0 | 95 | Gew. Arhythmie | |
| 8 00 | 0 | 95—105 | | Beleckt sich selten |
| 8 14 | — | — | | Vom Gestell befreit; dünnflüssiger Durchfall |

Darmsaft „M“: Erepsin = 12,4. „Periodischer Darmsaft“: Erepsin = 11,3.

*Versuch 13.*

Hund 3. Gewicht 7,5 kg. Angewandte Dosis des Methylguanidins = etwa 11 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 11h00′ | — | — | | Gefüttert |
| 12 00 | — | 95—105 | Gew. Arhythmie | Beginn der Beobachtung |
| 4 00 | 0 | 95—105 | | Gefüttert |
| 4 30 | 0 | 95—105 | | |
| **4 35–36′** | 0 | 105—75 | Regulär und stark gespannt | *Injektion 0,15 g salpetersaures Methylguanidin* (Präparat III) intravenös (5 proz. Lösung) |
| 4 38′ | ↗ | 75 | | Beginn der Darm- und Speichelsekretion |
| 4 53 | 1,2 | 85 | | Beleckt sich oft; peristaltische Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Knurren in Gedärmen |
| 5 30 | 0 | 85 | Gew. Arhythmie | |
| 7 30 | 0 | 85—80 | | Beleckt sich sehr selten |
| 7 40 | — | — | | Vom Gestell befreit; dünnflüssiger Durchfall |

Tätigkeit aller Verdauungsdrüsen, welche unter dem Einfluß einer kombinierten Erregung seitens des eingeführten Methylguanidins einerseits und der gewöhnlichen Verdauungsreize andererseits hervorgerufen sein könnte.

Wenn wir in Betracht ziehen, daß das Methylguanidin in allen von uns angewandten Gaben (von 36 bis 7 mg pro Kilogramm) stets ein und dieselben Erscheinungen — Pulsverlangsamung sowie Sekretion mehrerer Drüsen — hervorrief, so liegt die Vermutung nahe, ob die erregende Wirkung des Methylguanidins nicht auf die Elemente des

*Versuch 14.*

Hund 3. Gewicht 7,5 kg. Angewandte Dosis des Methylguanidins = etwa 9 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Puls | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 10h00' | — | — | | Gefüttert |
| 11 00 | — | 95—105 | Gew. Arhythmie | Beginn der Beobachtung |
| 2 00 | 0 | 95—105 | | Gefüttert |
| 2 45 | 0 | 95—105 | | |
| 2 45-46' | — | 105—60 | Regulär und stark gespannt | *Injektion 0,1 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) intravenös (5 proz. Lösung) |
| 2 48' | ↗ | 65 | | Beginn der Darm- und Speichelabsonderung |
| 3 00 | 1,9 („M“) | 70 | | Beleckt sich sehr oft; Speichelfluß; leichtes Muskelzittern; peristaltische Darmbewegung, in den Fistelöffnungen; Knurren in Gedärmen |
| 3 15 | 0,2 | 70 | | |
| 3 30 | 0 | 85 | Gew. Arhythmie | |
| 4 00 | 0 | 85—90 | | Beleckt sich nicht mehr |
| 5 00 | 0 | 90—95 | | |
| 5 15 | — | — | | Vom Gestell befreit; 5h18' dünnflüssiger Durchfall |

Darmsaft „M“: Erepsin = 13,2. „Periodischer Darmsaft“: Erepsin = 11,8.

parasympathischen Nervensystems gerichtet sei? Zur Klärung dieser Frage könnten in gewissem Grade Beobachtungen über die Einwirkung des Methylguanidins bei völlig atropinisierten Tieren dienen.

Aus den Versuchen 15 und 16 folgt, daß sogar die volle Atropinisierung des Tieres nur teilweise die erregende Wirkung des Methylguanidins auf die Darmsekretion hemmt, dieselbe aber nicht vollständig paralysiert, sogar wenn das Methylguanidin in relativ geringen Dosen eingeführt worden ist. Augenscheinlich hängt der Wechselwirkungseffekt dieser beiden Stoffe von den relativen Konzentrationen derselben in jedem Organ ab. Besonders deutlich trifft dieses bei der Einwirkung dieser beiden Stoffe auf den Puls zu. Die scharf ausgeprägte Pulsverlangsamung, welche in den ersten Sekunden nach der Methylguanidininjektion am völlig atropinisierten Tiere beobachtet werden konnte, und welche in diesem Falle keineswegs durch die Blutdrucksteigerung aufzuklären ist, weist darauf hin, daß in diesem Moment wohl die Methylguanidinwirkung vorherrscht. Die wiederum rasch darauf ($1/2$ bis 1 Minute) eintretende Pulsbeschleunigung zeugt dafür, daß bei Verminderung der Konzentration des Methylguanidins im Blute die Atropinwirkung auf die gleichen Elemente des Systems in den Vordergrund tritt. Dieselben Beziehungen bestehen aller Wahrscheinlichkeit nach auch bei der Darmsekretion. Dafür spricht die Tatsache, daß ein und dieselbe Dosis des Methylguanidins im Versuch 15, wo 0,004 g Atropin eingeführt worden waren, eine bedeutende Darmsekretion hervorrief, dagegen im Versuch 16 bei 0,006 g Atropin eine

*Versuch 15.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage 4 Uhr nachmittags. Angewandte Dosis: des Atropins = etwa 0,5 mg pro Kilogramm, des Methylguanidins = etwa 18 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Puls | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 11h00′ | — | 80—85 | |
| **11 45** | 0 | 85—80 | *Injektion 0,004 g Atropini sulfur.* subkutan |
| 12 00 | 0 | 280—270 | Mydriasis completa; Pupillenreflex auf Licht fehlt, Schleimhäute trocken, halluziniert |
| 12 15 | 0 | 280—270 | |
| **12 30-31′** | — | 280—70 | *Injektion 0,2 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) intravenös (5 proz. Lösung) |
| 12 32′ | — | 80—90 | Sehr starke Spannung (12 30–3 45); Mydriasis completa, Pupillenreflex auf Licht fehlt, halluziniert (12 32–5 00) |
| 12 35 | ↗ | 215 | Beginn der Darmsaftabsonderung; Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Schnauze, Zunge u. Mundschleimhaut feucht, mit Schleim bedeckt |
| 12 40 | — | 215 | Niest und hustet ziemlich oft |
| 12 45 | 0,4 | 215 | |
| 1 00 | 0,2 | 215 | |
| 1 15 | 0,1 | 215 | |
| 1 30 | 0 | 215 | Niest selten |
| 1 45 | 0,1 | 200 | |
| 2 00 | 0,1 | 190 | |
| 2 15 | 0,3 | 180 | |
| 2 30 | 0,3 | 160 | |
| 2 45 | 0,9 | 160 | |
| 3 00 | 0,4 | 105 | Kein Niesen; Mundschleimhaut trocken |
| 3 15 | ? | 100 | |
| 3 30 | 0 | 100 | |
| 3 45 | 0,2 | 100 | |
| **3 47** | — | 100—115 | *Injektion 0,01 g Pylocarpini hydrochlorici* subkutan |
| 4 00 | 0 | 115—145 | |
| 4 15 | 0,1 | 115 | |
| 4 30 | 0 | 115 | |
| 4 45 | 0 | 100 | Mundschleimhaut nicht so trocken wie vorher |
| 5 00 | 0 | 95 | |

viel geringere Sekretion beobachtet wurde. Es muß hier noch betont werden, daß im Versuch 15 die Einführung von 0,01 g Pilocarpin, welche Dosis an demselben Tiere gewöhnlich eine sehr bedeutende Sekretion hervorrief, in diesem Falle am atropinisierten Hunde, verschieden vom Methylguanidin keine Sekretion zu verursachen imstande war.

Derartige Abhängigkeit des in der Atropin-Methylguanidinwechselwirkung resultierenden Effektes von den relativen Konzentrationen der genannten Stoffe im Organ könnte nur dann stattfinden, wenn diese beiden Stoffe auf die gleichen Elemente des Organs bzw. auf die gleichen Elemente des in ihm vorhandenen parasympathischen Nervensystems einzuwirken imstande wären.

Da aber weiter die sekretionserregende Wirkung des Methylguanidins jedenfalls durch das Atropin stark abgeschwächt wird, so

*Versuch 16.*

Hund 3. Gewicht 7½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags. Angewandte Dosen: des Atropins = 0,8 mg pro Kilogramm, des Methylguanidins = etwa 18 mg freier Base pro Kilogramm.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Puls | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 1h00′ | — | 95 | Beginn der Beobachtung |
| 2 00 | 0 | 95 | |
| 2 15 | 3,4 | 100 | |
| 2 20 | 0,2 | 95 | *Injektion 0,002 g Atropin. sulf.*, subkutan |
| 2h26—27′ | 0 | 95—300 | |
| 2h35′ | 0 | 280 | Mydriasis incompleta, Pupillenreaktion auf Licht geschwächt |
| 3 00 | 0 | 260 | |
| 3 30 | 0 | 215 | *Injektion 0,001 g Atropin. sulf.*, subkutan |
| 4 00 | 0 | 215 | |
| 4 15 | 0 | 215 | *Injektion 0,002 g Atropin. sulf.*, subkutan |
| 4 30 | 0,2 | 215 | |
| 4 45 | 0 | 215 | *Injektion 0,001 g Atropin. sulf.*, subkutan. Mydriasis completa, Pupillenreaktion auf Licht fehlt, Schleimhäute vollkommen trocken |
| 5 00 | 0 | 215 | *Injektion 0,2 g salzsaures Methylguanidin* (Präparat IV) subkutan (5 proz. Lösung) |
| 5h03—04′ | 0 | 60—70 | Tiefe, stark verlangsamte Atmung; Puls stark gespannt. Sehr starke Spannung |
| 5h06′ | ↗ | 220 | Schnauft oft. Muskelzittern |
| 5 20 | 0,3 | 220 | |
| 5 35 | 0 | 220 | Darmbewegungen in den Fistelöffnungen ziemlich oft |
| 5 50 | 0 | 210—190 | |
| 6 05 | 0 | 180 | |
| 6 20 | 0 | 180—170 | |
| 6 35 | 0 | 170 | |
| 7 35 | 0 | 170 | |
| 7 50 | 0,2 | 170—150 | |
| 8 05 | 0 | 145 | |
| 8 20 | 0 | 145—135 | |
| 8 35 | 0 | 120 | |
| 9 00 | 0 | 120 | |

ist es ebenfalls anzunehmen, daß das Methylguanidin in den von uns angewandten Dosen auch die dem Zentrum näher liegenden Elemente des parasympathischen Nervensystems, als wo der Angriffspunkt des Atropins sich befindet, zu beeinflussen imstande ist.

Wenn wir in Betracht ziehen, daß das Methylguanidin bei den höheren Tieren eine Reihe von Symptomen zentralen Ursprungs, wie z. B. spinal, mesencephalon-striär und cortical bedingte Erscheinungen seitens des Muskelsystems [*Frank*, *Stern* und *Nothmann* (14)], sowie in entsprechenden Dosen eingeführt, sogar einige bedeutende anatomische Veränderungen in verschiedenen Bezirken des Gehirns [*Fuchs* (15), *Kirschbaum* (16), *Nothmann* (17)] hervorrufen soll, so müssen wir mit der Wahrscheinlichkeit rechnen, daß das Methylguanidin seine Wirkung auch auf die Zentren des parasympathischen Nervensystems ausüben könnte; doch selbstverständlich können diese Beziehungen nur durch spezielle Untersuchungen aufgeklärt werden.

Wenn wir endlich in Erwägung ziehen, daß das Methylguanidin schon in kleinen Gaben auch bei völlig atropinisierten Tieren eine

Darmsekretion erzeugt, die, wenn relativ schwach, jedenfalls nicht geringer als die „periodische Sekretion“ unter denselben Bedingungen ist, so unterliegt es keinem Zweifel, daß dieser Stoff auch die Fähigkeit, die *Drüsenzellen* in ihrer spezifischen Tätigkeit *unmittelbar* zu erregen, besitzt.

Es muß hier erwähnt werden, daß nach den Untersuchungen von *Bowschyk* und *Sineljnikow* (18) die Blutdrucksteigerung nach Einführung des Methyl- und Dimethylguanidins durch die Einwirkung dieser Stoffe unmittelbar auf die Muskelelemente der peripheren Blutgefäße zu erklären ist.

Bekanntlich ist das Methylguanidin aus dem Muskelgewebe höherer Tiere — des Rindes, Pferdes, Schafes und Schweines — in Mengen von 0,028 bis 0,058 Proz. und aus den Skelettmuskeln des Menschen in einer Menge von 0,041 Proz. isoliert worden [*Smorodinzew* (6)], obwohl die gegenwärtig zu diesem Zwecke anwendbaren Methoden keineswegs als quantitative betrachtet werden können. Setzt man nun voraus, daß der Methylguanidingehalt in den Muskeln des Hundes innerhalb derselben Grenzen liegt, so müßte im Muskelgewebe eines mittelgroßen Hundes (von etwa 10 kg Gewicht) nicht weniger als 1 bis 2,5 g Methylguanidin enthalten sein. Erinnern wir uns weiter, daß dieser Stoff auch in der Leber in bedeutender Menge und womöglich auch in anderen Organen vorhanden ist, so stellt sich heraus, daß die Gesamtmenge des Methylguanidins im Organismus unserer Hunde vielleicht sogar bedeutend mehr als 2,5 g beträgt. Vergleicht man nun die Größe der minimalen wirksamen Dosis des Methylguanidins mit dessen Gesamtgehalt im Körper, so folgt daraus, daß dieses Verhältnis demselben für das Adrenalin völlig entspricht.

Tatsächlich beträgt die minimalste Dosis des Adrenalins, welche noch immer eine schwache Blutdrucksteigerung hervorzurufen imstande ist, 0,002 mg pro Kilogramm, d. h. etwa 2 Proz. im Verhältnis zu dessen Gehalt in den Nebennieren [für Hunde 0,0666 bis 0,116 mg, also durchschnittlich 0,092 mg pro Kilogramm Gewicht des Tieres (19)]. Wie oben zu sehen war, verursachte das Methylguanidin noch in einer Menge von 5 mg pro Kilogramm eine Reihe von Erscheinungen; in einer Gabe von 7 mg beeinflußte es außerdem auch die Darm- und Magensekretion; daher sind 5 bis 7 mg pro Kilogramm, d. h. etwa 2 bis 3 Proz. dessen vermutlichen minimalsten Gesamtgehalts im Körper, als die sicher wirksame Dosis des Methylguanidins anzusehen, welche Zahlen also in den Grenzen derselben fürs Adrenalin liegen.

*Burns* und *Scharpe* (11) gelang es, das Methylguanidin aus dem Blute gesunder Hunde in einer Menge von 1,0 mg pro 1 Liter, aus dem der parathyreopriven sogar in einer Menge von 8,7 mg zu isolieren.

Erwägt man nun, daß bei den von den genannten Autoren zur Isolierung dieses Stoffes angewandten sehr komplizierten Verfahren große Verluste unvermeidlich waren, so ist es höchst wahrscheinlich, daß das Methylguanidin im Blute eventuell in bedeutend größerer Menge vorhanden sein könnte, oder mit anderen Worten, erreicht sein Gehalt im Blute sehr möglich eine derartige Größe, daß dieselbe für die Entwicklung der dem Methylguanidin eigentümlichen Wirkung vollkommen genügt.

Wenn wir endlich noch in Erwägung ziehen, daß das Methylguanidin, wie oben festgestellt, sogar in verhältnismäßig geringen Mengen eingeführt, jedoch außer einigen spezifischen Veränderungen in der Tätigkeit des Zirkulations- und Atmungsapparates sowie des Muskelsystems auch eine hohe sekretionserregende Wirkung auf mehrere Drüsen — Magen- und Speicheldrüsen, Schleimdrüsen des Atmungstractus und, was für uns von speziellem Interesse ist, auch auf die Darmdrüsen — auszuüben imstande ist, so müssen wir diesen Stoff als einen wahren Funktionserreger von hoher Aktivität und einer weit verbreiteten Wirkungssphäre betrachten und uns der Ansicht anschließen, welche von *R. Krimberg* (12) noch im Jahre 1915 ausgesprochen worden ist, nämlich daß das Methylguanidin zur Kategorie der Hormone hinzugerechnet werden muß, und daß die Beteiligung dieses Hormons am physiologischen Sekretionsmechanismus der Verdauungsdrüse und darunter auch der Darmdrüsen von großer Bedeutung ist.

Wie bekannt, war durch die Befunde *Kochs* (20) ein Zusammenhang zwischen den Guanidinen und dem als Tetanie bekannten Symptomokomplex sehr wahrscheinlich gemacht worden, wonach später durch die eingehenden Untersuchungen *Noel Patons* und seiner Mitarbeiter (21) auch die Ähnlichkeit der experimentellen parathyreopriven Tetanie mit der Guanidinvergiftung bestätigt wurde. *Frank*, *Stern* und *Nothmann* (14) sind der Meinung, daß das Dimethylguanidin in der Ätiologie der Tetanie eine dominierende Rolle spiele, wenn auch andere verwandte Gifte dabei mit beteiligt sein könnten.

Es ist eine wohlbekannte Tatsache, daß beim Menschen unter den anderen Symptomen der Tetanie häufig Erscheinungen einer Hypersekretion der Drüsen beobachtet werden können, und ebenso werden auch bei parathyreopriven Tieren auf der Höhe der Tetanie stets häufiges Erbrechen sowie Durchfälle, zuweilen sogar blutige, wahrgenommen. Ist es nun richtig, daß, wie von einigen Autoren angenommen wird, guanidinähnliche Stoffe und insbesondere die methylierten Guanidine im Blute bei der Tetanie in Mengen, welche die normalen mehrfach übertreffen, enthalten sind, so kann unter den anderen der Tetanie eigentümlichen Symptomen auch die Hypersekretion der Drüsen durch die in dieser Arbeit festgestellte excitosekretorische Wirkung des Methylguanidins und die gleiche Wirkung ähnlicher Stoffe auf mehrere Drüsen erklärt werden. Ziehen wir weiter in Betracht, daß das Methylguanidin — erstens: stets die Peristaltik erhöht — zweitens, die Drüsen des Jejunums oder augenscheinlich sogar des ganzen Darmtraktus erregt[1]), und endlich, daß außer der starken unmittelbaren sekretionserregenden Wirkung des Methylguanidins auf die Drüsen des Darmkanals eine sicherlich noch viel stärkere durch das

---

[1]) Nach den von uns an einem Polyfistelhunde gemachten, zwar nicht besonders zahlreichen und aus diesem Grunde hier nicht näher beschriebenen Beobachtungen ruft das Methylguanidin schon in Mengen von 8 mg pro Kilogramm eine bedeutende Steigerung der Sekretion auch aus dem unteren Teil des Duodenums und dem untersten Teil des Ileums hervor.

Eintreten in den Darm des in großen Mengen sezernierten Magensaftes hervorgerufene sekundäre Sekretion aller Verdauungsdrüsen (des Pankreas, der Leber und auch der Darmdrüsen) stattfindet, so können auch die Durchfälle bei Tetanie recht wohl durch die erhöhten Mengen des Methylguanidins und ihm verwandter Stoffe im Blut erklärt werden.

Einige Forscher sind zwar der Meinung, die Guanidine, welche bei der Tetanie ihre giftige Wirkung entfalten, seien exogenen Ursprungs, in erster Linie durch die Resorption aus dem Darm als Produkte der Bakterieneinwirkung auf Proteine entstanden [*Dragstedt* (22)]. Wie vorher erwähnt, ist schon die Gesamtmenge des im Organismus enthaltenen Monomethylguanidins allein im Verhältnis zu seiner Menge im Blute einerseits und zu seiner wirksamen Dosis andererseits sehr groß, weshalb unseres Erachtens nach es wohl am natürlichsten wäre, zu denken, daß das Methylguanidin des Blutes und ihm verwandte Stoffe in ihrem überwiegend größeren Teil in den Geweben des Organismus selbst und hauptsächlich in dem weit verbreiteten Muskelsystem produziert werden, und daß, wenn Guanidine exogenen Ursprungs physiologisch und pathologisch überhaupt eine Rolle spielen, so kann dieselbe nur als eine untergeordnete betrachtet werden.

Obwohl das Dimethylguanidin schon in den normalen Fäzes in sehr geringen Mengen und in viel größeren Mengen in den Fäzes tetanischer Kinder aufgefunden worden ist [*Scharpe* (23)], so sind wir dennoch geneigt, diesen Befund dahin zu deuten, daß dieser Stoff zum größten Teil, wenn nicht gänzlich endogenen Ursprungs ist, und zwar daß er nicht im Darmkanal durch Bakterientätigkeit entstanden, sondern zusammen mit den Verdauungssäften als sekretorisches, hauptsächlich im Muskelgewebe produziertes Hormon aus dem Blute ausgeschieden worden ist.

Nach Ansicht *Krimbergs* (12) erregen die sekretorischen Hormone die Drüsenzellen, indem sie in die letzteren aus dem Blute eintreten, dort ihre spezifische Wirkung entfalten und endlich als Bestandteile der Sekrete erscheinen.

Von diesem Standpunkte aus soll das Vorkommen der Guanidinbasen in den Fäzes und ebenso im Harn gesunder Kinder und Tiere, sowie das Vorkommen derselben in gesteigerten Konzentrationen in den genannten Ausscheidungen bei der Tetanie, wenn man sich der stark ausgeprägten excitosekretorischen Wirkung dieser Stoffe auf die Verdauungsdrüsen und die Nieren erinnert, auf ein und dieselbe Art erklärt werden, d. h. daß diese Stoffe — wie in den Fäzes so auch im Harn — als mit den Sekreten bzw. Exkreten ausgeschiedene Hormone betrachtet werden müssen.

---

Es ist schon vor längerer Zeit von mehreren Autoren [*Gulewitsch* (2), *Achelis* (8), *Krimberg* (12), *Frank*, *Stern* und *Nothmann* (14) u. a.] die Meinung ausgesprochen worden, daß zwischen dem Kreatin bzw. Kreatinin und den methylierten Guanidinen im Organismus ein gene-

## *Versuch 17.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen | Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 10h30′ | — | Beginn der Beobachtung | 3h36′ | ↗ | Beginn der Sekretion |
| 10 45 | 0,2 | | 3 46 | 2,4 | Knurren in Gedärmen (Allgemeiner Zustand, ohne Veränderungen) |
| 11 00 | 0,3 | | 4 00 | 0 | |
| 11 15 | 0,2 | | 4 15 | 0 | |
| 11 30 | 0 | | 4 30 | 0 | |
| 11 45 | 1,1 | Knurren in Gedärmen | 4 45 | 0,2 | |
| 12 00 | 0,7 | | 5 00 | 0 | |
| 12 15 | 0,1 | | 5 15 | 0,9 | Knurren in Gedärmen |
| 12 30 | 0,9 | | 5 30 | 1,3 | |
| 12 45 | 0,2 | | 5 45 | 1,3 | |
| 1 00 | 0,1 | | 6 00 | 0 | |
| 1 15 | 0 | | 6 15 | 0,1 | |
| 1 30 | 0 | | 6 30 | 0,6 | |
| 1 45 | 0,7 | | 6 45 | 2,1 | Knurren in Gedärmen |
| 2 00 | 0,1 | | 7 00 | 0,2 | |
| 3 30 | 0 | | 7 15 | 0,2 | |
| 3 32 | — | *Injektion 0,2 g Kreatin* intraven. (4 proz. Lösg.) | 7 30 | 0,2 | |
| | | | 8 00 | 0 | |

## *Versuch 18.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen | Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 10h45′ | — | Beginn der Beobachtung | 2h45′ | 1,3 | (Allgemeiner Zustand ohne Veränderungen) |
| 11 00 | 0,2 | | 3 00 | 0,1 | |
| 11 15 | 1,0 | | 3 15 | 0 | |
| 11 30 | 0,2 | | 3 30 | 0 | |
| 11 45 | 0 | | 3 45 | 0 | Knurren in Gedärmen |
| 12 00 | 0 | Knurren in Gedärmen | 4 00 | 2,0 | |
| 12 15 | 2,0 | | 4 15 | 0 | |
| 12 30 | 0,2 | | 4 30 | 0 | |
| 12 45 | 0 | | 4 45 | 0 | |
| 12 50 | 0 | *Injektion 0,5 g Kreatin* intraven. (2½ proz. Lösg.) | 5 00 | 1,2 | Knurren in Gedärmen |
| 1 05 | 0 | (Allgemeiner Zustand ohne Veränderungen) | 5 15 | 2,5 | |
| 1 10 | 2,6 | | 5 30 | 0 | |
| 1 30 | 0 | Knurren in Gedärmen | 5 45 | 0 | |
| 1 45 | 0 | | 6 00 | 0 | |
| 2 00 | 0,4 | | 6 15 | 2,0 | |
| 2 15 | 0 | | 6 30 | 1,1 | Knurren in Gedärmen |
| 2 30 | 1,2 | Knurren in Gedärmen | 6 45 | 0 | |
| | | | 7 00 | 0 | |

*Versuch 19.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen | Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 10h00' | — | Beginn der Beobachtung | 2h15' | 2,7 | Puls 85, arhythmisch |
| 10 15 | 0 | | 2 30 | 0 | Puls 85, arhythmisch |
| 10 30 | 0 | | 2 45 | 0 | |
| 10 45 | 0 | Puls 85—90 | 3 00 | 0 | |
| 11 00 | 0 | | 3 15 | 0 | |
| 11 15 | 0 | | 3 30 | 0 | |
| 11 30 | 0 | | 3 45 | 3,0 | Knurren in Gedärmen |
| 11 45 | 0 | Knurren in Gedärmen | 4 00 | 0 | |
| 12 00 | 3,1 | | 4 15 | 0 | Puls 80—85, arhythmisch |
| 12 15 | 0 | | 4 30 | 0 | |
| 12 30 | 0 | Puls 85—90 | 4 45 | 0 | |
| 12 45 | 0 | | 5 00 | 0 | |
| 1 00 | 0 | | 5 15 | 0 | |
| 1h15-17' | 0 | *Injektion 0,8 g Kreatin* intraven. (2 proz. Lösg.) | 5 30 | 0 | Knurren in Gedärmen |
| | | | 5 45 | 3,6 | |
| 1h30' | 0 | Puls 85, arhythmisch | 6 00 | 0 | |
| 1 45 | 0 | Puls 85, arhythmisch | 6 15 | 0 | |
| 2 00 | 0 | Knurren in Gedärmen | 6 30 | 0 | |

*Versuch 20.*

Hund 3. Gewicht 7 ½ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen | Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 10h15' | — | | 3h00' | 0 | |
| 10 30 | 0 | | 3 15 | 0 | |
| 10 45 | 0 | | 3 30 | 0 | *Injiziert 0,25 g Kreatinin* intraven. (5 proz. Lösg.) |
| 11 00 | 0 | Knurren in Gedärmen | 3 45 | 0 | Puls 95—90, arhythmisch |
| 11 15 | 1,7 | Puls 85—90 | 4 00 | 1,9 | Knurren in Gedärmen |
| 12 00 | 1,8 | Puls 85—90 | 4 15 | 0 | |
| 12 15 | 0,2 | | 4 30 | 0 | Puls 95—90, arhythmisch |
| 12 30 | 0 | | 4 45 | 0 | |
| 12 45 | 0 | Knurren in Gedärmen | 5 00 | 0 | |
| 1 00 | 0 | | 5 15 | 0 | |
| 1 15 | 0 | | 5 30 | 0 | Knurren in Gedärmen |
| 1 30 | 0 | | 5 45 | 1,8 | |
| 1 45 | 0 | | 6 00 | 0,7 | |
| 2 00 | 0 | Knurren in Gedärmen | 6 15 | 0 | Puls 95—90, arhythmisch |
| 2 15 | 3,7 | | 6 30 | 0 | |
| 2 30 | 0 | | 6 45 | 0 | |
| 2 45 | 0 | Puls 85—90 arhythmisch | 7 00 | 0 | |

*Versuch 21.*

Hund 3. Gewicht $7\frac{1}{2}$ kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

| Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen | Zeit | Menge des Darmsaftes ccm | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 11h00' | — | | 3h30' | 0 | Puls 85—90 |
| 11 15 | 0 | | 3 45 | 0,7 | *Injiziert 0,45 g Kreatinin* intraven. (5 proz. Lösg.) |
| 11 30 | 0 | | 4 00 | 0 | Puls 85—90, arhythmisch |
| 11 45 | 0 | | 4 15 | 1,8 | Puls 85—90, arhythmisch, Knurren in Gedärmen |
| 12 00 | 0 | | 4 30 | 0,7 | Puls 85—90, arhythmisch |
| 12 15 | 2,2 | Knurren in Gedärmen | 4 45 | 0,5 | „ 85—90, „ |
| 12 30 | 0 | | 5 00 | 0 | „ 85—90, „ |
| 12 45 | 0 | | 5 15 | 0 | |
| 1 00 | 3,1 | Knurren in Gedärmen | 5 30 | 0 | |
| 1 15 | 0 | | 5 45 | 0 | |
| 1 30 | 0 | | 6 00 | 0 | |
| 1 45 | 0 | | 6 15 | 1,4 | Knurren in Gedärmen |
| 2 00 | 0 | | 6 30 | 1,3 | |
| 2 15 | 0 | | 6 45 | 0 | |
| 2 30 | 1,0 | | 7 00 | 0 | |
| 2 45 | 0 | | 7 15 | 0 | |
| 3 00 | 0 | | | | |
| 3 15 | 0 | | | | |

tischer Zusammenhang sei[1]), weshalb es uns nicht als überflüssig erscheint, auch die von uns gemachten Beobachtungen über den Einfluß des Kreatins und Kreatinins auf die Darmsekretion anzuführen.

Wie aus den angeführten Versuchen zu ersehen ist, üben weder das Kreatin noch das Kreatinin in Mengen bis zu 1 g, direkt in den Blutkreislauf eingeführt, irgend eine bemerkbare Wirkung auf die Darmsekretion aus; ebenso blieb ohne jede sichtbare Wirkung die Einführung dieser beiden Stoffe auch auf die Funktionen anderer Organe, soweit man über dieselben sozusagen klinisch urteilen kann.

## Literatur.

1) *L. Brieger*, Untersuchungen über die Ptomaine **8**, 34, 1886; Berl. klin. Wochenschr. 1887, Nr. 44. — 2) *W. Gulewitsch*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 471, 1906. — 3) *F. Kutscher*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **10**, 531, 1905. — 4) *R. Krimberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 417, 1906. — 5) *W. Skworzow*, Diss. Moskau 1909; Zeitschr. f. physiol. Chem. **68**, 36, 1910. — 6) *J. Smorodinzew*, Ber. d. Akad. d. Wiss., St. Petersburg **1916**, 1535; Journ. d. russ. physikal.-chem. Ges. (chem. Teil) **49**, 266, 1917. — 7) *Derselbe*, Diss. 1911; Zeitschr. f. physiol. Chem. **80**, 218, 1912. — 8) *W. Achelis*, ebendaselbst **50**, 10, 1907. — 9) *Kutscher* und *Lohmann*, ebendaselbst **49**, 81, 1906. — 10) *R. Engeland*, ebendaselbst **57**,

[1]) In allen diesen Versuchen wurden auf ihre chemische Reinheit geprüfte Präparate des Kreatins und Kreatinins angewandt.

49, 1908. — 11) *Burns* und *Scharpe*, Quarterl. Journ. of exper. Physiol. **10**, 245, 1917. — 12) *R. Krimberg*, Zur Frage über den Mechanismus der Magensekretion. Charkow 1915; Die Hormone usw. Charkow 1918. — 13) *Derselbe*, Hoppe-Seyler-Tierfelders Handbuch der physiologisch-chemischen Analyse, 1909, S. 758—761; Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Lieferung 73 (Abt. I, Teil 7, H. 2), S. 325. — 14) *E. Frank*, *R. Stern* und *Nothmann*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **24**, 341, 1921. — 15) *A. Fuchs*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **97**, 79, 1923. — 16) *W. Kirschbaum*, Deutsch. Zeitschr. f. Nervenheilk. **77**, 251, 1923. — 17) *M. Nothmann*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **33**, 316, 1923. — 18) *M. Bowschyk* und *E. Sineljnikow*, Russki Wratsch 1916, Nr. 23; Ber. d. Universität Odessa **1**, 1919. — 19) *A. Biedl*, Innere Sekretion, 2. Aufl., **1**, 430; **2**, 6. — 20) *W. Koch*, Journ. f. biol. Chem. **12** und **15** (1912/13). — 21) Quarterl. Journ. of Physiol. **10**, 1917. — 22) *L. Dragstedt*, Journ. of the Amer. med. assoc. **79**, 1593, 1922; Ber. über d. ges. Physiol. **20**, 228. — 23) *Scharpe* Biochem. Journ. **14**, 46, 1920.

# Über die Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff.

Von

**Theodor Brugsch und Else Pollak.**

(Aus der II. medizinischen Klinik der Charité Berlin.)

*(Eingegangen am 18. März 1924.)*

Der quantitative Übergang von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff darf biologisch als erwiesen angesehen werden [*Brugsch* und *Yoshimoto*[1])]. Die Chemie[2]) des Gallenfarbstoffes wie die des Blutfarbstoffes ergibt andererseits so weitgehende Parallelen im Aufbau wie Abbau, daß kein Physiologe an dem Zusammenhang zwischen Blutfarbstoff und Gallenfarbstoff zweifeln kann, in dem Sinne, daß eines aus dem anderen hervorgeht. Was aber unseres Wissens noch fehlt, ist die Umwandlung des Blutfarbstoffes in Gallenfarbstoff in vitro, sei es durch chemische Agenzien, sei es auf fermentativem Wege.

Wohl gab *Parisot*[3]) an, daß er durch Einwirkung von Adrenalin auf deplasmatisiertes und hämolysiertes Blut unter Anwendung von Schwefelammon und Natriumhydrosulfit eine Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff erhalten haben will. Den Nachweis der Umwandlung erbrachte er durch spektroskopische Beobachtung bis zum Hämatoporphyrin und schließlich durch positive *Gmelin*sche Reaktion und den Nachweis abgespaltenen Eisens. Dieser Befund hat unseres Wissens weder Beachtung noch Bestätigung oder die notwendige Erweiterung erfahren. Wir selbst sind *nicht* mit diesem Verfahren zum Ziele gekommen, da wir den Abbau nur bis zum Hämatoporphyrin erreichen konnten, aber keine Reaktion nach *Hijmanns van den Bergh* erzielten.

Es ist uns jetzt gelungen, durch Einwirkung *von Brenzcatechin auf Blutfarbstoff* (Hämin bzw. seine Derivate) *diesen glatt in Gallen-*

---

[1]) *Brugsch* und *Yoshimoto*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. **1911**.

[2]) *W. Küster*, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden; *Hans Fischer*, Ergebn. d. Physiol. **15**; ferner *Thannhauser*, Klin. Wochenschr. **1**, Nr. 17, April 1923.

[3]) *Parisot*, C. r. de l'Acad. d. science **153**, 1518, 1911.

*farbstoff umzuwandeln.* Wesentlich bei der Reaktion ist die Orthostellung der Hydroxylgruppen, da weder Hydrochinon noch Resorcin die Umwandlung bewirken. Läßt man nun auf Hämin (hergestellt aus Rinderblut nach dem bekannten Verfahren) Brenzcatechin einige Zeit einwirken, so entsteht ein Gallenfarbstoff, der sich vom überschüssigen Brenzcatechin trennen läßt. Er zeigt das spektroskopische Verhalten des Bilirubins, kuppelt mit Diazoreagens entsprechend den Angaben von *Hijmanns van den Bergh* ganz identisch mit einer reinen Bilirubinlösung und gibt die *Gmelin*sche Reaktion.

Um die Substanz zu definieren, sind wir damit beschäftigt, den Körper in entsprechend größerer Menge darzustellen. Unsere Untersuchungen erstrecken sich weiter auf die Einwirkung analoger Körper mit Hydroxylgruppen in charakteristischer Stellung auf den Blutfarbstoff.

---

# Über den Abbau von Nucleinsäuren durch Takadiastase.

Von

**J. Noguchi.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

*(Eingegangen am 3. März 1924.)*

Wie ich in einer früheren Mitteilung gezeigt habe, werden Phosphorsäure-ester der Kohlenhydrate durch ein in der Takadiastase enthaltenes Ferment gespalten[1]). Hierbei handelte es sich um die Lösung der Bindung zwischen Phosphorsäure und einem Zucker der 6-Kohlenstoffreihe. Nun kommen in der Natur aber auch Verbindungen von Phosphorsäure mit 5-Kohlenstoffzuckern sowie mit unbekannten Kohlenhydraten vor, und diese Ester bilden das Skelett der verschiedenen Nucleinsäuren derart, daß diese Zuckerphosphorsäuren mit Pyrimiden und Purinbasen zu komplizierten Gebilden vereinigt sind. Die glykosid-spaltenden Fermente weisen eine sehr weitgehende Spezifizität auf, indem beispielsweise die Alkyl-pentoside im Gegensatz zu den entsprechenden Derivaten des Traubenzuckers von den Glucosidasen nicht mehr angegriffen werden können. Es ist nun bemerkenswert, daß die Einstellung der esterspaltenden Fermente in der Kohlenhydratreihe offenbar nicht eine derartig feine ist; denn die enzymatische Ablösbarkeit der Phosphorsäure aus den Nucleïnen und Nucleinsäuren beweist, daß letzten Endes auch die den Kernsubstanzen zugrunde liegenden diversen Zucker-phosphorsäuren der fermentativen Hydrolyse unterliegen.

Nachdem sich die Takadiastase geradezu als ein Arsenal der allerverschiedensten Fermente in den Arbeiten des hiesigen Instituts herausgestellt hat, habe ich geprüft, ob dieses leicht zugängliche Enzymmaterial imstande ist, auch die Nucleinsäuren zu zerlegen. Dabei beschränkte ich mich auf die Feststellung, daß Phosphorsäure aus der organischen Bindung frei wird. Nebenher entstehen Produkte einer weitgehenden Nucleinsäure-zertrümmerung, beispielsweise Purine, deren Auftreten nachgewiesen werden konnte[2]).

---

[1]) *J. Noguchi*, diese Zeitschr. **143**, 190, 1923; vgl. auch *S. Akamatsu*, ebendaselbst **142**, 184, 1923 und **142**, 187, 1923.

[2]) Vgl. die Untersuchungen über die Mineralisierung des Nucleinphosphors durch Bodenbakterien, die *J. Stoklasa* (Ch. C. **1911 I**, **1314**) sowie *A. Koch* und *A. Oelsner* (diese Zeitschr. **134**, 76, 1923) ausgeführt haben.



Zu meinen Versuchen verwendete ich Hefe-nucleinsäure, und zwar in freiem Zustande wie als Natriumsalz, ferner eine Nucleinsäure tierischer Herkunft, die Thymus-nucleinsäure.

Die Resultate, die ich erzielt habe, gehen aus folgenden Versuchsbeschreibungen hervor.

*1. Versuch:* 1000,0 ccm einer 2proz. Lösung von hefe-nucleinsaurem Natrium, 2 g Takadiastase[1]), 10 ccm Toluol. Temperatur 37°.

Nach 4 Tagen trat eine beträchtliche Trübung der Lösung ein.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$ | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,0964 | 0,3882 |
| 3 | 0,1116 | 0,4494 |
| 7 | 0,1131 | 0,4550 |
| 9 | 0,1130 | 0,4550 |

Nachdem die Lösung noch weitere 20 Tage im Brutschrank gestanden hatte, wurde dieselbe filtriert. Aus dem Niederschlage konnten Guanin und Adenin in Form ihrer Pikrate abgeschieden und identifiziert werden.

800,0 ccm der filtrierten Lösung wurden mit weiteren 2 g Takadiastase und 8 ccm Toluol versetzt und im Brutschrank bei 37° gehalten.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$ | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,1162 | 0,4651 |
| 2 | 0,1170 | 0,4684 |
| 3 | 0,1186 | 0,4748 |
| 5 | 0,1187 | 0,4749 |

Nach Zugabe von weiteren 0,5 g Takadiastase ergab sich:

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$ | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,1190 | 0,4764 |
| 2 | 0,1220 | 0,4884 |
| 3 | 0,1221 | 0,4885 |

Bei fortgesetzter Digestion schieden sich wieder die erwähnten Purinbasen ab.

*2. Versuch:* 2,0 g Thymus-nucleinsäure wurden in 100,0 ccm Wasser gelöst und mit Natronlauge genau neutralisiert. Diese Lösung versetzte ich mit 0,2 g Takadiastase sowie 1 ccm Toluol und bewahrte dieselbe bei 37° auf.

[1]) Japanisches Präparat.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$ | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,0378 | 0,1522 |
| 2 | 0,0524 | 0,2110 |
| 3 | 0,0584 | 0,2351 |
| 4 | 0,0638 | 0,2569 |
| 5 | 0,0664 | 0,2673 |
| 6 | 0,0670 | 0,2698 |
| 7 | 0,0680 | 0,2738 |
| 8 | 0,0681 | 0,2739 |

*3. Versuch:* 2,0 g freie Hefe-nucleinsäure in 200,0 ccm Wasser, 0,2 g Takadiastase, 1 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$ | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,0426 | 0,1715 |
| 2 | 0,0524 | 0,2110 |
| 3 | 0,0544 | 0,2190 |
| 4 | 0,0558 | 0,2234 |
| 5 | 0,0580 | 0,2335 |
| 6 | 0,0581 | 0,2339 |
| 7 | 0,0588 | 0,2368 |
| 8 | 0,0588 | 0,2368 |

*4. Versuch:* a) 85,0 ccm einer 1 proz. Lösung von hefe-nucleinsaurem Natrium, 0,1 g Takadiastase[1]), 0,9 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$. | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,0346 | 0,1385 |
| 3 | 0,0434 | 0,1737 |
| 5 | 0,0438 | 0,1753 |

b) Kontrollversuch: 85 ccm Wasser, 1,0 g Takadiastase, 0,9 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene g $Mg_2P_2O_7$ | Gehalt an $PO_4$ in 100,0 ccm Lösung in g |
|---|---|---|
| 1 | 0,0160 | 0,0682 |
| 3 | 0,0166 | 0,0709 |
| 5 | 0,0167 | 0,0709 |

c) Aus einer 1 proz. Lösung von nucleinsaurem Natrium, die mit 1 proz. Toluol bei 37° stehen blieb, wurde keine Phosphorsäure frei.

Aus den mitgeteilten Daten ergibt sich, daß in der Takadiastase ein Nucleinsäuren zerlegendes Agens vorhanden ist, das sowohl tierische als pflanzliche Nucleinsäure angreift und aus ihr Phosphorsäure in anorganischer Gestalt abspaltet. Nach der gegenwärtig gebrauchten Nomenklatur muß also Nucleinase plus Nucleotidase zugegen sein.

[1]) Englisches Präparat.

# Über die Resorptionsbeschleunigung des Cholesterins bei Anwesenheit von Desoxycholsäure.

Von

**Rudolf Schönheimer.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

*(Eingegangen am 20. März 1924.)*

Im Laufe der letzten Jahre wurden unter den Laboratoriumstieren wichtige Verschiedenheiten zwischen Omnivoren und Herbivoren in bezug auf den Lipoidstoffwechsel entdeckt. *Neisser* und *Bräuming* (1) konnten die nach Fettmahlzeiten beim Menschen genau studierte optisch sichtbare Lipämie zwar bei der Katze und *Bang* (2) beim Hunde nachweisen, aber selbst mit allergrößten Fettdosen wurde dieselbe beim Kaninchen nicht hervorgerufen. Nach eigenen Untersuchungen (3) zeigen auch Ratten und Mäuse, niemals aber das Meerschweinchen eine Lipämie. *Versé* (4) zeigte, daß die Fettresorption beim Kaninchen sehr langsam vor sich geht und nimmt an, daß hierin der Unterschied zu den Omnivoren liege. Ein anderes Gebiet, das die Stoffwechselverschiedenheiten demonstriert, ist das Verhalten der verschiedenen Tiere nach Cholesterinzufuhr. Das Kaninchen und das Meerschweinchen reagieren auf fortgesetzte Zufuhr von Cholesterin in Fetten gelöst mit einer ganz langsam ansteigendem Hypercholesterinämie, die bei langer Versuchsdauer außerordentliche Werte annehmen kann. Nach etwa einem Monat zeigt sich auch bei diesen Tieren eine optisch nachweisbare Lipämie, die bis zur sahnenartigen Beschaffenheit des Serums führen kann. Zugleich entwickelt sich bei diesen Tieren eine Atherosklerose in der Aorta und in anderen Gefäßen [*Anitschkow* (5), *Wacker* und *Hueck* (6) usw.], sowie eine Ablagerung von anisotropen Fetten in den verschiedensten Organen [*Chalatow* (7)]. Die Omnivoren und der Mensch verhalten sich einer derartigen Lipoidzufuhr gegenüber anders. Nur unmittelbar nach der Fettzufuhr ist die Lipämie sichtbar und verschwindet schon wenige Stunden danach wieder. Auch chemisch ist der Cholesterinspiegel im Blute nur kurze Zeit erhöht, um schnell wieder abzufallen; eine Ablagerung anisotroper Fette oder gar eine Athero-

sklerose konnte bei diesen Tieren bisher nicht hervorgerufen werden. Die schnelle Resorption und Ausscheidung scheinen diese Tiergattung vor der experimentellen Erkrankung zu schützen. In Anbetracht dieses verschiedenartigen Verhaltens der beiden Tiergattungen können vorläufig die Versuche, die sich mit der Erzeugung der Atherosklerose beim Kaninchen und Meerschweinchen beschäftigen, noch nicht zur Erklärung der Genese dieser Erkrankung beim Menschen herangezogen werden.

Aus diesen Gründen wurde versucht, durch Beigaben von anderen Stoffen zur Cholesterin-Öllösung beim Kaninchen einen ähnlichen Resorptionsvorgang hervorzurufen, wie er gewöhnlich bei den Omnivoren gefunden wird. Als Zeichen für die beschleunigte Resorption wurde die einige Stunden nach Eingabe des Fettes auftretende und bald wieder verschwindende sichtbare Lipämie angesehen. Das Serum wurde zwei- bis dreimal während des Versuches auf seinen Cholesteringehalt geprüft.

In einer früheren Arbeit mit *Joël* (8) zusammen berichteten wir, daß von drei Kaninchen, die mit Sudan III gesättigter Butter gefüttert waren, zwei Tiere eine echte Verdauungslipämie aufwiesen, indem das Serum nach 5 Stunden von milchiger, himbeerroter Farbe war und nach 24stündigem Stehen das Fett sich zu einem großen, intensiv roten Tropfen an der Oberfläche „abgerahmt“ hatte, wonach das Serum seine normale Farbe zurückerhalten hatte. Analytische Fett- und Cholesterinbestimmungen im Blute konnten wir bei diesen Tieren nicht ausführen, doch nahmen wir an, daß durch das Sudan die Fettresorption aus dem Darme beschleunigt worden sei. Damit schien ein Weg gezeigt, wie man durch Zugabe von anderen Stoffen die Fettverdauung so beschleunigen könnte, daß die Kaninchen eine Verdauungslipämie nach dem Typus der Omnivoren aufweisen.

Die Sudan-Lipämie wurde aber nicht weiter untersucht, da wir es hier mit einem Stoffe zu tun hatten, dem physiologisch keine Bedeutung zukommt.

Nach den Untersuchungen von *Wieland* und *Sorge* (9), die fanden, daß Cholesterin in einer wässerigen Lösung von Na-Desoxycholat nach dem Choleinsäure-Prinzip selbst in Lösung gehe, ein Vorgang, der von *Neuberg* (10) auch für die Salze vieler anderer organischer Säuren festgestellt und als Hydrotropie bezeichnet worden ist, schien mir die Beigabe dieses Stoffes zu den Cholesterinlösungen als aussichtsreich. Schon *Wieland* und *Sorge* nahmen an, daß den Gallensäuren wegen ihrer besonderen Löslichkeitsbedingungen eine wichtige Rolle bei der Resorption anderer Stoffe zukommt.

Es kamen zwei Wege in Betracht, auf denen eine schnellere oder langsamere Resorption eines Stoffes nachgewiesen wird:

1. Nach einer bestimmten Zeit wird der Darmkanal untersucht.
2. Nach einer bestimmten Zeit wird das Blut untersucht.





Als Vorversuch untersuchte ich die Resorption von Neutralfetten bei Anwesenheit von Desoxycholsäure[1]). Der Einfachheit halber wurden zwei Gruppen von je fünf Mäusen mit gleichem Gewicht untersucht, deren Darminhalte 6 Stunden nach Eingabe des Fettes gemeinsam extrahiert wurden.

*Versuch 1.*

| Mäuse | Nahrung | Ätherextrakt aus d. Darm nach 6 Std. g | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| Gruppe 1: Nr. 1, 2, 3, 4, 5 | Zusammen: 0,8 g Butter + 0,12 g 10 proz. Lösung von Na-Desoxycholat | 0,117 | Serum kräftig lipämisch |
| Gruppe 2: Nr. 6, 7, 8, 9, 10 | Zusammen: 0,8 g Butter + 0,12 g Wasser | 0,424 | Serum kräftig lipämisch |

Die Unterschiede sind außerordentlich groß; nach 6 Stunden war bei Zugabe von Desoxycholsäure nur etwa $^1/_3$ der Menge Fett im Darm vorhanden, die ohne Eingabe des Salzes zugegen war. Trotzdem waren Mäuse zu weiteren Versuchen ungeeignet, da sich bei ihnen das Blut nicht chemisch untersuchen läßt und da sie wegen des Auftretens einer Verdauungslipämie nach einmaliger Fettzufuhr (Gruppe 2) dem Typus der Omnivoren folgen.

*Versuch 2.*

| Kaninchen | Nahrung | Ätherextrakt aus Darminhalt n. 12 Std. g | Ätherextrakt in 100 ccm Serum g | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 1. Gew. 3070 | 30 g Butter + 5 ccm 10 proz. Na-Desoxylchol. | 17,29 | 0,379 | Mäßig lipämisch |
| 2. Gew. 2530 | 30 g Butter + 5 ccm Wasser | 18,9 | 0,226 | Nicht lipämisch |

Die Zahlen für die Darminhalt-Ätherextrakte sind aber nicht zu verwerten, da es nicht gelingt, durch Hunger den Kaninchendarm zu entleeren, vor allem, da die hungernden Tiere den eigenen Kot fressen.

Der Ätherextrakt im Blute aber zeigte erhebliche Differenzen.

Diese Versuche stimmen mit der kurzen Angabe von *Pohl* (11) überein, daß die Desoxycholsäure die Fettresorption aus dem Darme beschleunige.

Schon in meinen ersten Versuchen, in denen ich Magendarminhalt oder Blutserum nicht quantitativ untersucht hatte, beobachtete ich, daß bei Tieren, die mit einer Kombination von Fetten und Na-Desoxycholat gefüttert waren, einige Stunden nach Eingabe eine sichtbare

---

[1]) Die Desoxycholsäure wurde von der Firma Riedel A.-G, Berlin, dankenswerterweise zur Verfügung gestellt.

Lipämie auftrat, die zwar in ihrer Stärke verschieden und manchmal nur schwer darstellbar war. Bei zwei Kaninchen war das Serum intensiv milchig getrübt und bei einem dauerte dieser Zustand 3 Tage an, während er bei den meisten nach 1½ Tagen völlig verschwunden war. Besonders kräftig war diese Lipämie beim Meerschweinchen. Diese Tiere verhalten sich auch nach anderen Untersuchungen in bezug auf die Verdauungslipämie ebenso wie die Kaninchen.

Als weiterer Vorversuch wurde die Wirkung der Desoxycholsäure allein ohne Fett- oder Cholesterinbeigabe auf den Cholesterinspiegel des Blutes untersucht. Das Serum-Cholesterin wurde nach *Autenrieth* und *Funk* (12) mit der Modifikation von *Grunke* (13) untersucht. Vorher war festgestellt, daß Na-Desoxycholat[1]) nicht die *Liebermann*sche Probe gibt. Der bei dem Versuch gefundene Anstieg um 1 mg-Proz. liegt innerhalb der Fehlergrenzen.

*Versuch* 3.

| Kaninchen | Nahrung | Serumcholesterin vor Versuch mg | Serumcholesterin nach 24 Std. mg | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 3. Gew. 2810 | 0,8 g Na-Desoxycholat in 5 ccm Wasser | 59 | 60 | Keine Lipämie |

Da in der experimentellen Pathologie unter den angeführten Tierklassen dem Cholesterin eine besondere Rolle zugeschrieben wird, so schien mir die Untersuchung dieses Stoffes bei Anwesenheit des gallensauren Salzes von besonderem Interesse. Wie bei den Versuchen zur Hervorrufung einer Arteriosklerose (*Anitschkow*, *Chalatow*) benutzte ich eine Lösung von Cholesterin in Fetten (Butter, Ol. arachidis oder Ol. lini), mit der eine feine Emulsion mit einer 10proz. Lösung von Na-Desoxycholat hergestellt wurde. Zu jedem Versuche wurde ein Kontrollversuch angesetzt mit einem Tiere, das dieselbe Fettnahrung erhielt, in der anstatt der Lösung von Na-Desoxycholat reines Wasser verwandt wurde. Versuchs- und Kontrolltiere wurden so zusammengestellt, daß sie gleiches Gewicht hatten, und, da die Kaninchen in ihrem an sich geringen Serumcholesteringehalt stark differieren, so wurde auch hierin auf möglichste Gleichartigkeit Wert gelegt. Zu jeder Cholesterinuntersuchung wurden den Tieren je 5 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen. Vor Entnahme der letzten Blutprobe in einem Versuche waren den Tieren 5 bzw. 10 ccm innerhalb der letzten 24 Stunden entnommen worden, eine Menge, die nach *Horiuchi* (14) keine optisch sichtbare oder chemisch nachweisbare Lipämie hervorruft. Es wurden nur Tiere in den Versuch genommen, denen mindestens 10 Tage vordem kein Blut entnommen war. Aus gleichen Gründen konnte leider der Cholesteringehalt des Serums nach Aufhören der sichtbaren Lipämie nicht mehr untersucht werden.

[1]) 5 ccm 0,4proz. Na-Desoxycholat in Wasser werden mit 20 ccm 25proz. NaOH zwei Stunden im Wasserbad erhitzt, mit Chloroform ausgezogen und die Lösung mit $Ca(OH)_2$ geklärt. Mit 5 ccm dieser Lösung wurde die *Liebermann*sche Probe angesetzt.



*Versuch 4.*

| Kaninchen | Nahrung | Serumcholesterin | | Anfangswert / Höhepunkt | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| | | vor Versuch | nach 24 Std. | | |
| 4. Gew. 2380 | 30 g Butter, 1,5 g Cholesterin, 0,5 g Na-Desoxycholat | 31 | 88 | 1 : 2,8 | Leicht lipämisch |
| 5 Gew. 2170 | 30 g Butter, 1,5 g Cholesterin | 38 | 54 | 1 : 1,4 | Keine Lipämie |

*Versuch 5.*

| Kaninchen | Nahrung | vor Versuch | nach 24 Std. | Anfangswert / Höhepunkt | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 6. Gew. 2000 | 20 g Ol. olivar, 1,0 g Cholesterin, 0,5 g Na-Desoxycholat | 62 | 131 | 1 : 2 | Keine Lipämie |
| 7. Gew. 1970 | 20 g Ol. olivar, 1,0 g Cholesterin | 62 | 88 | 1 : 1,2 | Keine Lipämie |

*Versuch 6.*

| Kaninchen | Nahrung | Serumcholesterin | | | Anfangswert / Höhepunkt | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | vor Versuch | nach 2 Std. | nach 24 Std. | | |
| 8. Gew. 2810 | 25 g Ol. arachidis, 1,85 g Cholesterin, 0,5 g Na-Desoxycholat | 56 | 60 | 99 | 1 : 1,8 | Nach 24 Std. leichte Lipämie |
| 9. Gew. 2380 | 25 g Ol. arachidis, 1,85 g Cholesterin | 56 | 62 | 62 | 1 : 1,1 | Keine Lipämie |

*Versuch 7.*

| Kaninchen | Nahrung | vor Versuch | nach 2 Std. | nach 24 Std. | Anfangswert / Höhepunkt | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 10. Gew. 2000 | 20 g Ol. olivar, 1,4 g Cholesterin, 0,5 g Na-Desoxycholat | 36 | 38 | 89 | 1 : 2,5 | Nach 6 Std. keine Lipämie, nach 24 Std. kräftige Lipämie |
| 11. Gew. 1990 | 20 g Ol. olivar, 1,4 g Cholesterin | 46 | 48 | 62 | 1 : 1,3 | Keine Lipämie |

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß das Cholesterin, das normalerweise vom Kaninchen nur sehr langsam resorbiert wird, bei Zugabe von Desoxycholsäure erheblich schneller und vielleicht auch ausgiebiger aufgenommen wird. Nach 24 Stunden ist bei Tieren, die außer dem Cholesterin das gallensaure Salz erhalten, das Serumcholesterin zwischen dem 1,8fachen bis zum 2,8fachen des Anfangswertes gestiegen, während ohne dieses Salz die Zunahme nur zwischen 1,1 und 1,4 liegt.

Nach 6 Stunden ist die Zunahme von Cholesterin im Blut sowohl mit als auch ohne Desoxycholsäure nur gering. Eine Lipämie nach dieser Zeit habe ich nur zweimal bei meinen ersten Versuchen gesehen, in denen ich leider keine chemische Serumuntersuchung vorgenommen hatte.

In dieser später einsetzenden und länger dauernden Trübung liegt ein Unterschied zur gewöhnlichen Verdauungslipämie der Omnivoren, die schon wenige Stunden nach der Mahlzeit sichtbar wird und schon nach 12 Stunden meist verschwunden ist.

**Zusammenfassung.**

1. Durch Zugabe von Na-Desoxycholat zu Fetten läßt sich auch bei einmaliger Fütterung an Kaninchen und Meerschweinchen eine optisch sichtbare Verdauungslipämie hervorrufen.

2. Nach Zugabe von Desoxycholsäure zu einer Cholesterinfettnahrung steigt bei Kaninchen der Cholesteringehalt des Serums erheblich stärker an als ohne diese Zugabe. Desoxycholsäure allein hebt den Cholesteringehalt des Serums nicht.

**Literatur.**

1) *Neisser* und *Bräuming*, Über Verdauungslipämie. Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therapie **4**, 1904. — 2) *Bang*, Über Lipämie. Diese Zeitschr. **90**, 1918. — 3) *Schönheimer*, Über die experimentelle Cholesterinkrankheit der Kaninchen. Virchows Arch. **249**, 1924. — 4) *Versé*, Über die experimentelle Lipocholesterinämie. Ziegl. Beitr. **68**, 1917. — 5) *Anitschkow*, Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. Ziegl. Beitr. **56**, 1913. — 6) *Wacker* und *Hueck*, Über die experimentelle Arteriosklerose und Cholesterinämie. Münch. med. Wochenschr. 1913. — 7) *Chalatow*, Über die experimentelle Cholesterinlebercirrhose. Ziegl. Beitr. **75**, 1913. — 8) *Joël* und *Schönheimer*, Studien über vitale Sudanfärbung. Erscheint im Zentralbl. f. Pathol. — 9) *Wieland* und *Sorge*, Untersuchungen über Gallensäuren II. Zeitschr. f. physiol. Chem. **97**, 1916. — 10) *Neuberg*, Hydrotropische Erscheinungen. Diese Zeitschr. **76**, 1916. — 11) *Pohl*, Physiologische Wirkung neuer Gallensäuren. Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **30**. — 12) *Autenrieth* und *Funk*, Die Bestimmung des Gesamtcholesterins im Blut und in den Organen. Münch. med. Wochenschr. 1913. — 13) *Grunke*, Über die Ausscheidung des Cholesterins im Harn. Diese Zeitschr. **132**, 1922. — 14) *Horiuchi*, Studies on blood fat. Journ. of biol. chem. **44**, 1920.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Rockefeller Foundation ausgeführt.

---

# Beiträge zur Wirkung des Insulins.

## I. Mitteilung:

## Zuckerbildung der überlebenden Froschleber.

Von

**B. v. Issekutz.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der Kgl. ungarischen Universität in Szeged.)

*(Eingegangen am 20. März 1924.)*

Zahlreiche eifrige Untersuchungen führten noch zu keiner vollständigen Erklärung der Insulinwirkung; man findet viele widersprechende Versuchsergebnisse, besonders, wenn man diese mit den durch Pankreasexstirpation gewonnenen Resultaten vergleicht.

Beim Pankreasdiabetes ist die Wirkung des Insulins noch am besten erklärt. Hier hebt es die ganzen Stoffwechselstörungen auf: es vermindert die Hyperglykämie, teils durch eine Steigerung der Zuckeroxydation — auf welches die Erhöhung der Respirationsquotienten hinweist —, teils durch eine Hinderung der Zuckerbildung: die glykogenarme diabetische Leber baut nämlich unter Insulinbehandlung viel Glykogen auf, gleichzeitig geht ihr Fettgehalt zurück [*Macleod und Mitarbeiter*[1])]. Ferner nehmen die Ketonkörper in Blut und Urin ab, und dadurch verschwindet die Acidosis. Bei gesunden Tieren sind die Verhältnisse viel verwickelter. Hier beherrschen die hypoglykämischen Symptome das ganze Bild: die große Zuckernot des Organismus verhindert die übrigen Erscheinungen der Insulinwirkungen, z. B. der Glykogengehalt der Leber nimmt nicht nur nicht zu, wie bei diabetischen Tieren, welche vielen überflüssigen Zucker haben, sondern er verschwindet beinahe ganz [*Dudley* und *Marian*[1])]. Die Untersuchung der Respirationsquotienten gab kein verwertbares Bild über die Stoffwechselstörung. Der Sauerstoffverbrauch ist nicht gesteigert, dieser spricht gegen eine Erhöhung der Zuckeroxydation. Hingegen beweisen mehrere Versuche, daß der Zuckerabbau unter der Insulinbehandlung zunimmt:

---

[1]) *H. Staub*, Klin. Wochenschr. 1923, 2139.

So nehmen nach *Hepburn* und *Latchford*[1]) die isolierten Saugerherzen aus der Durchströmungsflüssigkeit mehr Zucker mit Insulinzusatz auf als ohne Insulin. Nach *Bissinger, Lesser* und *Zipf*[2]) verschwindet der Traubenzucker in einer hungernden Maus nach Insulingabe dreimal so schnell wie normal. *Neuberg, Gottschalk* und *Strauss*[3]) fanden eine vermehrte Acetaldehydbildung durch Insulin in überlebenden Lebern. *Büchner* und *Grafe*[4]) beobachteten eine bedeutende Steigerung des Sauerstoffverbrauches in kleinen Gewebsstücken durch Insulin. *Ahlgren*[5]) untersuchte mit der *Thunberg*schen Methylenblaumethode das Oxydationsvermögen von Geweben. Diese entfärbten mit Insulin die Methylenblaulösung rascher als ohne Insulin.

Alle diese Versuche erklären jedoch die Hypoglykämie noch nicht, weil eine einfache Zunahme des Zuckerabbaues keine bedeutende Blutzuckerverminderung hervorrufen kann: Obwohl man durch eine Strychnin-Phlorrhizinbehandlung die Leber ganz glykogenfrei machen kann, bleibt doch der Blutzucker auf beinahe normaler Höhe; hingegen sinkt er nach Insulinbehandlung in einigen Stunden stark herab. Es ist wahr, daß der Glykogengehalt der Leber auch stark vermindert ist, doch sind die Kohlehydratdepots nicht erschöpft, weil man mit einer Adrenalininjektion den Blutzucker schnell erhöhen und dadurch die hypoglykämischen Krämpfe beheben kann. Es besteht also wahrscheinlich eine Hemmung, welche den gehörig schnellen Ersatz des Blutzuckers verhindert, und das Adrenalin behebt diese Hemmung.

Nach *Mann* und *Magath*[6]) sinkt der Blutzucker nach Leberexstirpation viel langsamer als nach Insulingabe. Diese Versuche bewiesen nur, daß das Insulin den Zuckerverbrauch steigert, aber sie schließen keine, die Zuckerbildung hemmende Wirkung des Insulins aus.

Ebenso spricht jener Umstand nicht gegen diese Auffassung, daß die Leber ihren Glykogengehalt während einer maximalen Insulinwirkung zur Zeit der hypoglykämischen Krämpfe gegen den starken Zuckeranspruch nicht bewahren könne, weil *Bickel* und *Collazo*[7]) fanden, daß normale, mit Insulin in kleinen Dosen behandelte Tauben und Meerschweinchen [*Collazo, Händel, Rubino*[8])] im Vergleich zu unbehandelten Tieren vermehrten Glykogengehalt in der Leber und Muskulatur aufweisen.

Auf die hemmende Wirkung des Insulins der Zuckerbildung gegenüber kann man auch aus dem gegenseitigen Antagonismus zwischen Insulin und Adrenalin mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit folgern. Einerseits verhindert das Insulin die experimentelle Piqure-, Asphyxie-,

---

[1]) *Geelmuyden*, Ergebn. d. Physiol. **22**, 293, 1923.
[2]) *E. Bissinger, E. J. Lesser* und *K. Zipf*, Klin. Wochenschr. **2**, 2233, 1923.
[3]) *Neuberg, Gottschalk, Strauss*, Deutsch. med. Wochenschr. 1923, S. 1407.
[4]) *S. Buchner* und *E. Grafe*, Klin. Wochenschr. **2**, 2320, 1923.
[5]) *Ahlgren*, Skand. Arch. f. Physiol. **44**, 167, 1923.
[6]) *Bissinger, Lesser* und *Zipf*, a. a. O.
[7]) *Bickel* und *Collazo*, Deutsch. med. Wochenschr. 1923, Nr. 46.
[8]) *Collazo, Händel, Rubino*, Klin. Wochenschr. **3**, 323, 1924.

Adrenalin-, CO-, Äther-Hyperglykämie, andererseits hebt eine Adrenalininjektion die durch Insulin verursachte Hypoglykämie auf. Es besteht eine solche mathematisch formulierbare quantitative Beziehung zwischen der Wirkung des Insulins und Adrenalins, daß diese durch *Eadie* und *Macleod*[1]) zur Auswertung des Insulins benutzt wurde.

Das Adrenalin bewirkt bekanntlich eine Verzuckerung des Leberglykogens mit daraus folgender Hyperglykämie und Glykosurie, es scheint sogar eine Bildung von Zucker aus Fett zu bewirken. Das Insulin hemmt wahrscheinlich die Zuckerbildung und begünstigt den Glykogenaufbau.

Nach alledem haben diese antagonistisch entgegengesetzt wirkenden Substanzen gemeinsame Angriffspunkte, und so wird die Neubildung und der Verbrauch von Kohlehydraten im Tierkörper reguliert.

*Barrenscheen*[2]) beobachtete, daß die Leber von pankreas-diabetischen Tieren keinen Zucker in Glykogen umzuwandeln vermochte.

*Fröhlich* und *Pollack*[3]), ferner *Lesser*[4]) konnten an überlebenden Frosch- und Schildkrötenlebern nachweisen, daß die Zuckerbildung der Lebern durch vorherige Pankreasexstirpation um 300 Proz. gesteigert wird. Es ist aber bisher noch nicht gelungen, diese hemmende Wirkung des Pankreashormons direkt nachzuweisen. So fanden *Noble* und *Macleod*[5]) bei Schildkröten, *Bissinger*, *Lesser* und *Zipf*[6]) bei Fröschen keinerlei Wirkung des Insulins auf die Zuckerbildung der überlebenden Lebern. Hingegen berichten *Griesbach* und *Bornstein*[6]) über Durchblutungsversuche an überlebenden Hundelebern, in denen die zuckermobilisierende Adrenalinwirkung durch das Insulin gehemmt wurde.

Meine zu gleicher Zeit angestellten Versuche klären diesen Widerspruch auf und beweisen, daß Insulin die Zuckerbildung auch bei Kaltblütern hemmt.

## Methode.

Die Durchströmungsversuche wurden an überlebenden Froschlebern (r. esculenta) in den Monaten November bis Februar angestellt. In die Vena abdom. wurde eine Kanüle eingebunden, welche durch eine T-Röhre mit einer Mareyflasche und mit einem kleinen Sammelgefäß in Verbindung stand. Der hintere Köperteil des Frosches wurde entfernt und der vordere auf eine dreieckige Glasplatte gelegt. Die Ringerlösung floß nach der Durchströmung der Leber aus dem aufgeschnittenen Herzen aus und tropfte von der Glasplatte in einen Trichter herab, aus welchem die Flüssigkeit durch einen kontinuierlichen Luftstrom mittels eines Röhrensystems wieder ins Reservoir zurückgehoben wurde. So wurde ein Kreislauf vom Sammelgefäß in die vena abdom. durch die Leber und zurück in das Sammelgefäß

---

[1]) *Eadie* und *Macleod*, Ber. d. ges. Physiol. **20**, 318, 1923.

[2]) *H. K. Barrenscheen*, diese Zeitschr. **58**, 277, 1914.

[3]) *Fröhlich* und *Pollack*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **77**, 265, 299, 1914.

[4]) *E. J. Lesser*, diese Zeitschr. **103**, 1, 1920.

[5]) *Bissinger*, *Lesser* und *Zipf*, a. a. O.

[6]) *Griesbach* und *Bornstein*, Klin. Wochenschr. **3**, 2266, 1923.

hergestellt. Die Leber wurde zu Beginn des Versuchs aus der *Marey*schen Flasche 15 bis 30 Minuten lang durchgespült und nur nach Entfernung des Blutes mit dem kleineren Sammelgefäße verbunden. Im Kreislauf zirkulierten immer 50 ccm Ringerlösung. Nach einer Periode von 30 bis 60 Minuten wurde die Durchströmungsflüssigkeit quantitativ aufgefangen und das Röhrensystem aus der *Marey*schen Flasche durchgespült. In den vereinigten Flüssigkeiten (etwa 70 ccm) wurde der Traubenzucker nach der neuen Methode von *Bang* bestimmt, welche zur Benutzung von 5 ccm Flüssigkeit etwas umgeändert wurde. Zu diesem Zwecke wurden 2,4 g Uranylacetat in 8,3 ccm n HCl gelöst und mit gesättigter KCl-Lösung auf 1000 ccm ergänzt. Je 10 ccm von dieser Lösung wurden mit je 6 ccm der untersuchten Flüssigkeiten vermischt, und nach einigen Stunden filtriert. Die Bestimmung wurde in 13,3 ccm des Filtrats (entsprechend 5 ccm der untersuchten Flüssigkeit) bei Anwendung von n/100 bis n/50 Jodat und 0,25- bis 0,5proz. Cupr. sulf.-Lösungen ausgeführt. Die so modifizierte Methode ermöglicht es, $^{1}/_{20}$ mg Traubenzucker in 5 ccm Lösung, also in einer Konzentration von 1 : 100000, genau zu bestimmen.

Das angewendete Insulin stellte ich nach der Methode *Doisy*, *Somogyi* und *Schaffer*[1]) dar und standardisierte es mit Kaninchenversuchen. Das durch Fällung mit Alkohol gereinigte, im Wasser klar lösliche Insulin enthielt eine 2-kg-Kanincheneinheit in 5 mg Substanz. Später wurde das „Insulin Chinoin" benutzt.

In der ersten Versuchsreihe (Tabelle I) wurden die Lebern nacheinander, mit den folgenden Lösungen (je 50 ccm) durchströmt: a) Ringerlösung, b) Adrenalin 1 : 200000, c) Ringerlösung allein oder mit Insulin, d) Adrenalin allein oder mit Insulin.

Die Zuckerbildung der Lebern waren während der Durchströmung mit Ringerlösung (pro 1 Stunde und 1 g Lebergewicht berechnet) 1,64 bis 3,95 mg, im Mittelwert 2,59 mg; das Adrenalin erhöhte diese auf 2,14 bis 9,60, im Mittelwert 5,39 mg. Wenn nachher die Leber durch normale Ringerlösung durchströmt wurde, so nahm die Zuckerbildung einmal (Versuch Nr. 2) stark ab, zweimal (Nr. 7, 8) aber änderte sie sich wenig. Ganz gleich waren die Ergebnisse, wenn die Durchströmung nach dem Adrenalin mit Insulin fortgesetzt wurde; die Zuckerbildung nahm zweimal (Nr. 3, 5) bedeutend, zweimal (Nr. 4, 6) mäßig, einmal (Nr. 15) nicht ab.

Das zum zweitenmal angewandte Adrenalin wirkte auf solche Lebern, welche mit Insulin nicht behandelt waren, einmal (Nr. 8) schwächer, einmal (Nr. 7) stärker als zum erstenmal, und in einem Falle (Nr. 2) wirkte es überhaupt nicht. Gleicherweise war die Wirkung des Adrenalins nach der Insulindurchströmung einmal (Nr. 1) gleich stark, einmal stärker (Nr. 15), dreimal (Nr. 4, 5, 6) schwächer als vor dem Insulin.

Das Insulin beeinflußte also die Zuckerbildung der von ihm durchströmten Lebern in dieser Versuchsreihe ebenso nicht wie in den Versuchen von *Macleod* und *Noble*[2]), ferner in den von *Bissinger*, *Lesser* und *Zipf*[3]).

In der zweiten Versuchsreihe (Tabelle II) bekamen die Frösche zuerst Insulin in den Bauchlymphsack, und nur nach 15 bis 23 Stunden

---

[1]) Ber. d. ges. Physiol. **19**, 46, 1923.

[2]) a. a. O.

[3]) a. a. O.

*Tabelle I.*

| Nr. | Datum | Gewicht in g | | Durchströmung mit je 50 ccm Ringer | Dauer in Min. | Zuckerbildung | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | des Frosches | der Leber | | | in mg | pro Std. | in Prom. des Lebergewichts | Zunahme in Prom. |
| 1 | 12. XI. | 180 ♀ | 3,06 | Ringer | 19 | 2,36 | 7,02 | 2,30 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 | 30 | 6,21 | 12,42 | 4,05 | 1,59 |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 | 30 | 7,12 | 14,22 | 4,65 | 2,19 |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 + Insulin 1 K.-E. | { 45 | 8,74 | 12,00 | 3,92 | 1,46 |
| | | | | | { 72 | 17,90 | 13,2 | 4,30 | 1,84 |
| | | | | Ringer | 142' | 17,50 | 7,50 | 2,45 | 0,15 |
| | | | | Ringer | 175 | 20,0 | 6,96 | 2,27 | — 0,03 |
| | | | | Ringer | 160 | 21,5 | 8,04 | 2,62 | 0,32 |
| 2 | 13. XI. | 70 ♀ | 2,60 | Ringer | 40 | 3,44 | 5,26 | 2,02 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 500 000 | 50 | 11,0 | 13,20 | 5,05 | 3,03 |
| | | | | Ringer | 55 | 5,95 | 6,48 | 2,47 | 0,45 |
| | | | | Ringer | 88 | 5,46 | 5,46 | 2,10 | 0,08 |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 | 120 | 10,05 | 5,02 | 1,96 | — 0,06 |
| 3 | 14. XI. | 120 ♀ | 5,50 | Ringer | 53 | 10,05 | 12,00 | 2,17 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 | 60 | 30,0 | 30,00 | 5,42 | 3,25 |
| | | | | Ringer | 90 | 24,7 | 16,50 | 3,00 | 0,83 |
| | | | | Insulin ½ K.-E. | 120 | 22,2 | 10,80 | 1,96 | — 0,21 |
| 4 | 15. XI. | 120 ♀ | 4,55 | Ringer | 30 | 5,05 | 10,10 | 2,22 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 | 37 | 10,87 | 17,64 | 3,86 | 1,64 |
| | | | | Insulin 1 K.-E. | 32 | 8,17 | 15,30 | 3,35 | 1,13 |
| | | | | Adrenalin + Insulin | 45 | 11,39 | 15,18 | 3,32 | 1,10 |
| | | | | Ringer | 35 | 7,66 | 13,02 | 2,87 | 0,65 |
| 5 | 26. XI. | 102 ♀ | 3,90 | Ringer | 32 | 5,05 | 9,42 | 2,42 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 48 | 12,50 | 15,60 | 4,00 | 1,52 |
| | | | | Insulin ½ K.-E. | 63 | 11,10 | 10,56 | 2,70 | 0,28 |
| | | | | Adrenalin + Insulin | 68 | 12,60 | 11,10 | 2,82 | 0,40 |
| | | | | Ringer | 35 | 6,4 | 10,80 | 2,76 | 0,34 |
| 6 | 27. XI. | 70 ♀ | 2,45 | Ringer | 51 | 8,1 | 9,72 | 3,95 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 45 | 15,1 | 20,10 | 8,20 | 4,25 |
| | | | | Insulin ½ K.-E. | 60 | 12,7 | 12,66 | 5,18 | 1,23 |
| | | | | Insulin + Adrenalin | 50 | 12,7 | 15,12 | 6,22 | 2,27 |
| 7 | 30. XI. | 105 ♀ | 4,05 | Ringer | 33 | 5,6 | 10,20 | 2,50 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 39 | 16,6 | 25,50 | 6,28 | 3,68 |
| | | | | Ringer | 50 | 21,5 | 25,80 | 6,35 | 3,85 |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 57 | 29,5 | 30,90 | 7,62 | 5,12 |
| | | | | Ringer | 25 | 10,7 | 25,68 | 6,63 | 4,13 |
| | | | | Ringer | 105 | 16,45 | 9,85 | 2,43 | — 0,07 |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 236 | 38,00 | 9,78 | 2,42 | — 0,08 |
| 8 | 2. XII. | 80 ♀ | 2,34 | Ringer | 42 | 5,35 | 7,62 | 3,25 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 36 | 13,10 | 21,72 | 9,60 | 6,35 |
| | | | | Ringer | 27 | 12,30 | 27,30 | 11,62 | 8,37 |
| | | | | Ringer | 40 | 12,00 | 18,00 | 7,68 | 4,33 |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 54 | 11,60 | 12,90 | 5,50 | 2,25 |
| | | | | Ringer | 35 | 6,40 | 11,04 | 4,72 | 1,47 |
| | | | | Ringer | 122 | 16,60 | 10,02 | 4,26 | 1,01 |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 50 | 10,30 | 12,42 | 5,30 | 2,05 |
| | | | | Ringer | 51 | 5,6 | 6,60 | 2,80 | — 0,45 |

*Tabelle I.* (Fortsetzung).

| Nr. | Datum | Gewicht in g des Frosches | Gewicht in g der Leber | Durchströmung mit je 50 ccm Ringer | Dauer in Min. | Zuckerbildung in mg | Zuckerbildung pro Std. | Zuckerbildung in Prom. des Lebergewichts | Zuckerbildung Zunahme in Prom. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9 | 3. XII. | 72 ♀ | 2,05 | Ringer | 50 | 2,80 | 3,36 | 1,64 | |
| | | | | Insulin 2/3 K.-E. | 54 | 3,12 | 3,48 | 1,70 | 0,06 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1:200000 | 50 | 4,22 | 4,38 | 2,14 | 0,50 |
| | | | | Ringer | 45 | 2,72 | 3,78 | 1,85 | 0,21 |
| 10 | 3. XII. | 100 ♀ | 3,63 | Insulin 3/4 K.-E. | 50 | 9,7 | 11,64 | 3,17 | |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1:200000 | 55 | 20,0 | 21,78 | 6,00 | 2,83 |
| | | | | Ringer | 60 | 11,2 | 11,16 | 3,06 | —0,11 |
| | 6. XII. | 98 ♀ | 4,33 | Ringer | 31 | 8,55 | 12,50 | 2,87 | |
| | | | | Adrenalin 1 : 250 000 | 31 | 9,40 | 18,00 | 4,15 | 1,28 |
| | | | | Insulin 3/4 K.-E. | 39 | 11,8 | 18,00 | 4,15 | 1,20 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1:200000 | 32 | 11,4 | 21,30 | 4,88 | 1,73 |

wurden die Durchströmungsversuche angestellt. Die Lebern wurden nach der Ausspülung des Blutes zuerst mit insulinhaltiger Ringerlösung, dann mit Adrenalin und Insulin durchströmt.

*Die diastatischen Wirksamkeiten der Lebern waren in jedem Falle viel kleiner* als in der ersten Versuchsreihe: Der produzierte Zucker war 0,25 bis 1,03, im Mittelwert 0,53 mg pro Stunde und 1 g Lebergewicht. Also setzte die vorhergegangene intra vitam Insulinbehandlung die Zuckerbildung der überlebenden Lebern von 2,59 mg auf 0,53 mg herab (Tabelle III).

Auch das Adrenalin war auf diese Lebern viel weniger wirksam; die Zuckerbildung nahm nach Adrenalin im Durchschnitt nur mit 0,39 mg pro Stunde und 1 g Lebergewicht zu, hingegen wuchs sie bei normalen Lebern mit 2,80 mg. Die diastatische Wirksamkeit stieg auch dann nicht, wenn die Leber des Insulinfrosches an Stelle von Insulin mit reiner Ringerlösung durchströmt war. In zwei Versuchen (Nr. 14, 16) wurde die Durchströmung 5 bis 6 Stunden nach der Insulininjektion begonnen; in diesen war die Zuckerbildung noch normal (2,30 bis 2,46 mg), doch verursachte das Adrenalin nur eine geringe (0,56 bis 0,46 mg) Zunahme derselben.

Den Einwand zu prüfen, daß die Abnahme der Zuckerbildung keine direkte Wirkung des Insulins, sondern nur eine Folge des Glykogenmangels sei, bestimmte ich in einigen Versuchen den Glykogengehalt der Leber. Dieser war in drei Versuchen normal (6,2 bis 7,4 Proz.), in zwei anderen hingegen auffallend niedrig (3,4 bis 3,7 Proz.).

Deshalb habe ich in einer dritten Versuchsreihe die Frösche zur Verhütung des Glykogenverbrauches gleichzeitig mit Insulin und auch mit Glucose (täglich 0,2 g) behandelt. Der Glykogengehalt der Lebern

*Tabelle 11.*

| Nr. | Datum | Gewicht in g: des Frosches | Gewicht in g: der Leber | Durchströmung mit je 50 ccm Ringer | Dauer in Min. | Zuckerbildung: in mg | Zuckerbildung: pro Std. | Zuckerbildung: in Prom. des Lebergewichts | Zuckerbildung: Zunahme in Prom. | Vorbehandlg. m. Insulin: Std | Vorbehandlg. m. Insulin: Kanincheneinheit |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | 4. XII. | 90 ♀ | 2,85 | Insulin 1 K.-E. | 60 | 0,77 | 0,77 | 0,27 | | 16 | 2/3 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 58 | 2,92 | 3,05 | 1,07 | 0,80 | | |
| | | | | Ringer | 87 | 2,45 | 1,74 | 0,60 | 0,33 | | |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 48 | 2,45 | 3,06 | 1,07 | 0,80 | | |
| 12 | 4. XII. | 82 ♀ | 3,12 | Insulin 2/3 K.-E. | 84 | 2,10 | 1,50 | 0,47 | | 23 | 2/3 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 60 | 2,16 | 2,16 | 0,68 | 0,21 | | |
| | | | | Ringer | 60 | 1,21 | 1,21 | 0,38 | — 0,09 | | |
| 13 | 5. XII. | 68 ♀ | 2,28 | Insulin 2/3 K.-E. | 65 | 1,4 | 1,29 | 0,56 | | 15 | 1/3 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 67 | 2,57 | 2,28 | 1,00 | 0,44 | | |
| 14 | 5. XII. | 98 ♀ | 3,56 | Insulin 1/2 K.-E. | 66 | 9,6 | 8,82 | 2,46 | | 5 | 1 |
| | | | | Insulin 1/2 K.-E. + Adren. 1:200000 | 40 | 7,2 | 10,80 | 3,02 | 0,56 | | |
| 16 | 6. XII. | 97 ♀ | 4,18 | Insulin 1/2 K.-E. | 52 | 8,6 | 9,96 | 2,30 | | 6 | 1 1/2 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 57 | 10,5 | 11,64 | 2,76 | 0,46 | | |
| 17 | 7. XII. | 110 ♀ | 4,26 | Insulin 1/2 K.-E. | 90 | 1,62 | 1,08 | 0,25 | | 22 | 1/2 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 60 | 3,33 | 3,33 | 0,78 | 0,53 | | |
| 18 | 12. XII. | 90 ♀ | 4,57 | Insulin 1/2 K.-E. | 58 | 2,29 | 2,32 | 0,50 | | 15 | 1 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 61 | 4,4 | 4,33 | 0,95 | 0,45 | | |
| | | | | Ringer | 50 | 2,36 | 2,83 | 0,61 | 0,11 | | |
| 19 | 12. XII. | 105 ♀ | 2,98 | Insulin 1 K.-E. | 70 | 3,6 | 3,09 | 1,03 | | 20 | 1 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 72 | 4,7 | 3,90 | 1,30 | 0,27 | | |
| 20 | 13. XII. | 75 ♀ | 1,47 | Insulin 1 K.-E. | 50 | 0,72 | 0,86 | 0,58 | | 40 | 1/2 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 47 | 1,35 | 1,72 | 1,17 | 0,59 | 17 | 1/2 |
| 21 | 14. XII. | 105 ♀ | 3,02 | Insulin 1 K.-E. | 72 | 3,35 | 2,82 | 0,96 | | 15 | 1 1/2 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 64 | 4,10 | 3,90 | 1,28 | 0,32 | | |
| 22 | 15. XII. | 125 ♀ | 3,057 | Insulin 1/2 K.-E. | 97 | 1,68 | 1,03 | 0,28 | | 39 | 1 |
| | | | | Insulin + Adrenalin 1 : 200 000 | 90 | 1,74 | 1,14 | 0,31 | 0,03 | 22 | 1/2 |
| 23 | 16. XII. | 95 ♀ | 2,54 | Ringer | 75 | 1,22 | 1,00 | 0,39 | | 46 | 1 |
| | | | | Adrenalin 1 : 200 000 | 82 | 2,15 | 1,56 | 0,64 | 0,25 | 16 | 1 |

dieser Frösche war trotz der großen Insulingaben nicht kleiner als der von normalen Lebern. Die Zuckerbildung der vorigen war aber nur 0,78 Prom.[1]), also viel kleiner als die der normalen, 2,75 Prom. (Tab. IV).

[1]) In diesen Versuchen wurden die Lebern mit insulinfreier Ringerlösung durchströmt.

*Tabelle III.*

| Zuckerbildung der normalen Leber | | | | | Zuckerbildung nach Insulinbehandlung | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| normal | | nach Adrenalin | | | normal | | nach Adrenalin | | |
| pro Std. in mg | in Prom. des Lebergewichts | pro Std. in mg | in Prom. des Lebergewichts | Zunahme in Prom. | pro Std. in mg | in Prom. des Lebergewichts | pro Std. in mg | in Prom. des Lebergewichts | Zunahme in Prom. |
| 7,02 | 2,30 | 14,22 | 4,65 | 2,35 | 0,77 | 0,27 | 3,05 | 1,07 | 0,80 |
| 5,26 | 2,02 | 13,20 | 5,05 | 3,05 | 1,50 | 0,47 | 2,16 | 0,68 | 0,21 |
| 12,00 | 2,17 | 30,00 | 5,42 | 3,25 | 1,29 | 0,56 | 2,28 | 1,00 | 0,44 |
| 10,10 | 2,22 | 17,64 | 3,86 | 1,64 | 1,08 | 0,25 | 3,33 | 0,78 | 0,53 |
| 9,42 | 2,42 | 15,60 | 4,00 | 1,58 | 2,32 | 0,50 | 4,33 | 0,95 | 0,45 |
| 9,72 | 3,95 | 20,10 | 8,20 | 4,25 | 3,09 | 1,03 | 3,90 | 1,30 | 0,27 |
| 10,20 | 2,50 | 25,50 | 6,28 | 3,78 | 0,86 | 0,58 | 1,72 | 1,17 | 0,59 |
| 7,62 | 3,25 | 21,72 | 9,60 | 6,35 | 2,82 | 0,96 | 3,90 | 1,28 | 0,32 |
| 3,36 | 1,64 | 4,38 | 2,14 | 0,50 | 1,03 | 0,28 | 1,14 | 0,31 | 0,03 |
| 11,64 | 3,17 | 21,78 | 6,00 | 2,83 | 1,00 | 0,39 | 1,56 | 0,64 | 0,25 |
| 12,50 | 2,87 | 18,00 | 4,15 | 1,28 | | | | | |
| 8,98 | 2,59 | 18,36 | 5,39 | 2,80 | 1,58 | 0,53 | 2,24 | 0,92 | 0,39 |

Ein anderer möglicher Einwand ist der, daß der erzeugte Zucker unter der Insulinwirkung schnell oxydiert wird, weshalb in der Durchströmungsflüssigkeit so wenig Zucker nachgewiesen werden kann. In dem *Barcroft*schen Apparat habe ich den Sauerstoffverbrauch der Lebern in einigen Versuchen bestimmt. Dieser war aber für eine vollständige Oxydation nur von 0,1 bis 0,2 mg Glucose hinreichend.

Wegen genauerer Untersuchung des Zuckerabbaues teilte ich den Leberbrei nach der Durchspülung in zwei Teile. In dem einen Teil bestimmte ich sofort die Glucose und das Glykogen, in dem anderen Teil jedoch erst nach vier- bis sechsstündiger Aufbewahrung in 4 ccm Ringer bei Zimmertemperatur. Die Glucose wurde mit 60proz. Alkohol ausgezogen und nach *Bang* bestimmt, im Rückstand wurde das Glykogen ermittelt. Später fand ich es für besser, die Gesamtkohlehydrate nach Hydrolysierung mit 2,2proz. HCl zu bestimmen. Zwischen dem Zuckerverbrauch der normalen und Insulinlebern war kein bedeutender Unterschied vorhanden (Tabelle V).

*Tabelle IV.* Versuche mit normalen Tieren.

| Nr. | Datum | Gewicht | | Zuckerbildung in Prom. | Glykogen in Proz. | Blutzucker in Proz |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Frosch | Leber | | | |
| 24 | 17. I. | 87 ♀ | 2,51 | 1,9 | 8,15 | |
| 25 | 18. I. | 100 ♀ | 3,33 | 2,35 | 5,0 | 0,055 |
| 32 | 27. I. | 110 ♀ | 2,53 | 2,10 | 10,4 | 0,083 |
| 38 | 12. II. | 100 ♀ | 3,93 | 2,94 | 6,0 | 0,082 |
| 39 | 13. II. | 85 ♀ | 4,33 | 3,02 | 12,4 | 0,11 |
| 40 | 15. II. | 90 ♀ | 3,98 | 1,68 | 10,1 | 0,088 |
| 43 | 21. II. | 65 ♀ | 1,86 | 5,65 | 8,52 | 0,085 |
| 44 | 24. II. | 85 ♀ | 1,43 | 3,12 | 3,60 | 0,033 |
| 45 | 25. II. | 100 ♀ | 3,11 | 2,00 | 8,70 | 0,085 |
| | | | | 2,75 | 8,96 | 0,077 |

*Tabelle IV.* (Fortsetzung).
Versuche nach Behandlung mit Insulin + Glucose.

| Nr. | Datum | Vorbehandlung | | Gewicht | | Zuckerbildung in Prom. | Glykogen in Proz. | Blutzucker in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Insulin K.-E. | Glucose g | Frosch | Leber | | | |
| 26 | 19. I. | $^2/_3$ | | | | | | |
| | 20. I. | | | 155 ♀ | 4,85 | 0,83 | 9,0 | 0,035 |
| 27 | 20. I. | $^2/_3$ | | | | | | |
| | 21. I. | 1 | | | | | | |
| | 22. I. | | | 160 ♀ | 2,66 | 0,17 | 2,8 | 0,01 |
| 28 | 23. I. | 2 | 0,4 | | | | | |
| | 24. I. | | | 115 ♀ | 3,436 | 1,00 | 9,2 | 0,20 |
| 29 | 23. I. | 2 | | | | | | |
| | 24. I. | 1 | 0,5 | | | | | |
| | 25. I. | | | 110 ♀ | 3,102 | 1,09 | 8,0 | 0,083 |
| 30 | 24. I. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 25. I. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 26. I. | | | 115 ♀ | 2,956 | 0,385 | 3,35 | 0,05 |
| 31 | 24. I. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 25. I. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 26. I. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 27. I. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 28. I. | | | 120 ♀ | 3,234 | 0,226 | 9,6 | 0,118 |
| 34 | 10. I. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 11. I. | | | 100 ♀ | 4,685 | 1,33 | 12,05 | 0,05 |
| 35 | 10. II. | 1 | 0,3 | | | | | |
| | 11. II. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 12. II. | | | 80 ♀ | 3,556 | 1,00 | 9,16 | 0,07 |
| 36 | 10. II. | 1 | 0,3 | | | | | |
| | 11. II. | 1 | 0,3 | | | | | |
| | 12. II. | 1 | 0,3 | | | | | |
| | 13. II. | | | 70 ♀ | 2,854 | 0,47 | 14,15 | 0,05 |
| 37 | 10. II. | 1 | 0,3 | | | | | |
| | 11. II. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 12. II. | 1 | | | | | | |
| | 13. II. | | 0,1 | | | | | |
| | 14. II. | | | 65 ♀ | 1,744 | 0,90 | 9,72 | 0,12 |
| 41 | 13. II. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 14. II. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 20. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 21. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 22. II. | | | 75 ♀ | 1,63 | 1,03 | 8,60 | 0,066 |
| 42 | 13. II. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 14. II. | 1 | 0,2 | | | | | |
| | 20. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 21. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 22. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 23. II. | | | 95 ♀ | 3,91 | 1,28 | 13,30 | 0,068 |
| 46 | 24. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 25. II. | $1^1/_3$ | | | | | | |
| | 26. II. | | | 100 ♀ | 3,62 | 0,54 | 7,42 | 0,038 |
| 47 | 24. II. | $1^1/_3$ | 0,2 | | | | | |
| | 25. II. | $1^1/_3$ | — | | | | | |
| | 26. II. | $1^1/_3$ | — | | | | | |
| | 27. II. | | | 120 ♀ | 4,54 | 0,65 | 7,82 | 0,066 |
| | | | | | | 0,78 | 8,87 | 0,073 |

*Tabelle V.*

| Nr. | Frosch | Kohlehydratgehalt d. Leberbreies | | Std. | Verbrauchter Zucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | sofort | nach $x$ Stunden | | während des Versuchs in Proz. | pro 1 Std. in Proz. |
| 35 | Insulin | 9,53 | 9,21 | 4 | 0,32 | 0,08 |
| 36 | " | 14,57 | 13,88 | $4^1/_2$ | 0,69 | 0,15 |
| 37 | " | 10,24 | 10,05 | $3^1/_2$ | 0,19 | 0,05 |
| 38 | Normal | 6,40 | 6,28 | 5 | 0,12 | 0,024 |
| 39 | " | 12,92 | 12,02 | $6^1/_2$ | 0,90 | 0,14 |
| 40 | " | 10,56 | 9,47 | 5 | 1,09 | 0,22 |
| 41 | Insulin | 8,6 | 7,95 | 23 | 0,65 | 0,03 |
| 42 | " | 13,3 | 13,15 | $3^1/_2$ | 0,15 | 0,04 |
| 43 | Normal | 8,52 | 8,10 | 10 | 0,42 | 0,04 |
| 45 | " | 8,70 | 8,4 | $4^3/_4$ | 0,30 | 0,06 |
| 46 | Insulin | 7,42 | 7,12 | $4^1/_2$ | 0,30 | 0,07 |
| 47 | " | 7,82 | 7,54 | 5 | 0,28 | 0,06 |

So gelang es, die angeführten Einwände zu widerlegen und den Beweis zu erbringen, daß *das Insulin die diastatische Wirksamkeit der Froschlebern in großem Maße vermindert.* Es benötigt aber eine geraume Zeit zur Entfaltung dieser Wirkung. Deshalb beeinflußt das Insulin, wenn es zur Durchströmungsflüssigkeit der überlebenden Leber gegeben wurde, die Zuckerbildung nicht. Wenn aber die Frösche einen Tag zuvor mit großen Insulingaben behandelt wurden, dann war die Abnahme der Glykogenhydrolyse sehr auffallend. Diese Wirkung des Insulins ist sehr anhaltend, weil man diese durch keine Ausspülung mit reiner Ringerlösung aufheben kann.

In den Versuchen von *Lesser*[1]) war die diastatische Wirksamkeit der Lebern nur dann bedeutend gesteigert, wenn er diese frühestens 2 Tage nach Pankreasexstirpation untersuchte. Während die Hyperglykämie und Glykosurie beim Hunde einige Stunden nach der Pankreasexstirpation beginnt, machen sich dieselben bei Fröschen und Schildkröten nur am zweiten Tage nach der Exstirpation bemerklich. Wenn das Fehlen des Pankreashormons beim Frosch eine Stoffwechselstörung so langsam verursacht, dann ist es begreiflich, daß die extreme Steigerung dieser Hormonwirkung auch eine geraume Zeit erfordert.

**Zusammenfassung.**

Das Insulin erfordert beim Frosch eine geraume Zeit zur Entfaltung seiner Wirkung. Deshalb beeinflußt das Insulin, wenn es zur Durchströmungsflüssigkeit der überlebenden Leber gegeben wurde, die Zuckerbildung nicht.

Wenn aber die Frösche einen Tag zuvor mit großen Insulingaben behandelt wurden, so zeigten ihre Lebern in den Durchströmungsver-

[1]) a. a. O.

suchen eine bedeutend (1/4 bis 1/5) geringere Zuckerbildung und reagierten auf Adrenalin viel weniger als die normalen Lebern.

Diese Unterschiede wurden weder durch einen Glykogenmangel noch durch einen vermehrten Zuckerabbau verursacht; weil auch die diastatische Wirksamkeit der Lebern von mit Insulin und Glucose behandelten Fröschen, welche einen normalen Glykogengehalt haben, viel kleiner war als die der normalen Lebern und weil kein bedeutender Unterschied zwischen dem Zuckerverbrauch der normalen und Insulinlebern vorhanden war.

## Harnstoff und Glykokoll als Eiweißersatz in Versuchen an Milchziegen.

Ein Beitrag zur Frage über den Nährwert der Amidstoffe.

Von

**E. Ungerer.**

(Mitteilung aus dem agrikulturchemischen und bakteriologischen Institut der Universität Breslau.)

*(Eingegangen am 21. März 1924.)*

In den letzten Jahren wurde die alte strittige Frage über den Nährwert der stickstoffhaltigen Verbindungen nichteiweißartiger Natur, der sogenannten Amidstoffe, durch Verwendung des Harnstoffs, dem Amid der Kohlensäure oder Aminoameisensäure, als Ersatz für Eiweiß zur Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere, insbesondere Wiederkäuer, erneut aufgeworfen. Der Gedanke, Harnstoff zu verfüttern, ist nicht neu.

Nach *C. Voit*[1]) erscheint der an Hunde verabfolgte Harnstoff fast quantitativ im Harn wieder. *H. Meyer*[2]) berichtet, daß verfütterter Harnstoff in Harnsäure übergeht. Ein großer Überschuß von Harnstoff führt zu einem unveränderten Ausscheiden durch die Nieren[3]). *Heilner*[4]) beobachtet nach subkutaner Einspritzung einen erhöhten Eiweißzerfall. Nach *N. Janneys*[5]) Versuchen am Menschen verursacht per os eingegebener Harnstoff einen gesteigerten Eiweißumsatz bzw. eine Ausschwemmung N-haltiger Körper. *E. Grafe*[6]) erzielte bei Schweinen bei eiweißarmer und kohlehydratreicher Nahrung positive Stickstoffbilanzen, die Frage, ob es sich hierbei um Eiweißansatz handelte, wurde in einer späteren Versuchsreihe im bejahenden Sinne entschieden[7]). Über das Zustandekommen

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. **2**, 50, 1866.

[2]) Dissertation Königsberg 1877 nach Abderhaldens Lehrbuch **1**, 626, 1921.

[3]) *H. Wiener*, Hofmeisters Beiträge **2**, 42, 1902.

[4]) Zeitschr. f. Biol. **52**, 216, 1909.

[5]) Zeitschr. f. phys. Chem. **76**, 99, 1911/12.

[6]) Ebendaselbst **84**, 69, 1913.

[7]) Ebendaselbst **88**, 389, 1913.

der positiven Stickstoffbilanzen sind die Ansichten geteilt. Nach *V. Henriques* und *A. C. Andersen*[1]) bestehen vier Möglichkeiten. 1. Bildung von Bakterieneiweiß durch die Darmbakterien nach der Theorie von *Zuntz-Bahlmann*, dieses ist verdaulich und verhält sich wie echte Proteine. 2. Die aufgenommenen stickstoffhaltigen Stoffe werden vom Organismus zurückgehalten und nur sehr langsam abgegeben. Diese Beobachtung wird indessen durch Versuche von *E. Taylor* und *A. J. Ring*[2]) an Hunden widerlegt, wonach als Ammoncarbonat aufgenommener Stickstoff retiniert, aber nicht in der Nachperiode ausgeschieden wird. 3. Harnstoff könnte hemmend auf den Stickstoffumsatz wirken und eine Retention vortäuschen. 4. Der resorbierte Harnstoff wird mit Kohlehydraten zu Eiweiß synthetisiert. Um diese letztere Frage zu entscheiden und den Einfluß der Darmbakterien auszuschalten, spritzten die Verfasser einem Ziegenbock Harnstoff und Traubenzucker während einer längeren Versuchsreihe in die Halsvene ein. Es gelang nicht, Stickstoffablagerungen zu erzielen. Die Stickstoffretentionen müssen daher auf Bakterienwirkung oder auf einfacher Ablagerung in unveränderter Form beruhen. Nach *F. Knoop*[3]) indessen besteht die Möglichkeit, daß der Organismus aus α-Ketosäuren, aber auch aus α-Oxysäuren bei Anwesenheit von Ammoniak α-Aminosäuren bildet, und da feststeht, daß in den Geweben aus Traubenzucker Milchsäure entstehen kann[4]), so ist anzunehmen, daß aus Zuckerspaltungsprodukten mit Ammoniak zusammen Eiweißkerne gebildet werden können. *Abderhalden*[5]) konnte keine direkte Verwendung des Harnstoffs zur Bildung von Aminosäuren im Zellstoffwechsel finden (Versuche an Hunden). *E. Peschek*[6]) erzielte nicht allein mit Amidsubstanzen und Ammonsalzen eine stickstoffsparende Wirkung, sondern auch mit Natriumacetat an Fleischfressern und Wiederkäuern und hält es nicht für angängig, aus Stickstoffretentionen, die man durch Gaben stickstoffhaltiger Salze erhält, einfach zu schließen, daß der Stickstoff dieser Salze für den Aufbau des Eiweißmoleküls verwendet worden ist. *N. Janney*[7]) konnte die Stickstoffausscheidung nach Darreichung von Natriumbicarbonat bis auf ein Drittel herunterdrücken.

*W. Völtz*[8]) führte als erster Fütterungsversuche mit Harnstoff an Wiederkäuern aus und gelangte in einer 155tägigen ununterbrochenen Versuchsreihe zu stets positiven Bilanzen und zu dem bedeutenden Ergebnis, daß der Harnstoff beim wachsenden Schafe das Nahrungseiweiß vollständig zu ersetzen vermag. Da das verwandte Füllmaterial (aufgeschlossene Roggenspreu) nur ganz geringe Mengen an verdaulichem Eiweiß enthielt, mußte der Harnstoff als stickstoffhaltiger Nährstoff verwertet worden sein. *Völtz* erklärt diese Verwertung mit Hilfe der *Zuntz*schen Hypothese. Das aus Harnstoff und Zucker gebildete Bakterieneiweiß wurde zu 97 Proz. resorbiert. Die Versuche *Morgens*[9]) mit ausgewachsenen Hammeln fielen

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. 92, 21, 1914; ähnlich äußert sich *Grafe* über die N-Retentionen, a. a. O.

[2]) Journ. of biol. Chem. 14, 407, 1913.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 500, 1910.

[4]) *Abderhalden*, Lehrb. d. physiol. Chem., 4. Aufl., 1, 135.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 92, 50, 1915.

[6]) Diese Zeitschr. 52, 275, 1913; 62, 186, 1914.

[7]) a. a. O.

[8]) Diese Zeitschr. 102, 151, 1920.

[9]) L. V. St. 99, 1, 1921.

nicht so günstig aus, die Bilanzen waren dauernd negativ, das Körpergewicht sank in der Ersatzperiode ständig. Der Ersatz des Futterreineiweiß durch Harnstoff war allerdings recht hoch und betrug 68 Proz. *A. Scheunert*[1]) stellte Stoffwechsel- und Respirationsversuche mit drei ausgewachsenen und einem noch wachsenden Hammel an. Es wurde ein eiweißarmes und kohlehydratreiches Futter gereicht, so daß eine Harnstoffwirkung im Sinne der Bakterieneiweißtheorie wohl zu erwarten war. Trotz stark positiver Stickstoffbilanzen nahmen die Tiere an Körpergewicht nicht zu. Nach der gesamten Stoffwechsel- und Energiebilanz bestand ein geringer Überschuß der Einnahmen über die Ausgaben, ein Ansatz hätte demnach erfolgen müssen. Für die Stickstoffretentionen findet *Scheunert* keine andere Erklärung, als daß der fehlende Stickstoff durch die Haut ausgeschieden sein mußte.

Der plötzliche starke Abfall im Harnstickstoff in der harnstofffreien Periode deutet darauf hin, daß der Harnstoff nicht zu Eiweiß aufgebaut wurde. *Scheunert* lehnt daher die Bakterieneiweißtheorie ab und schreibt dem Harnstoff lediglich eine den Stoffwechsel stimulierende Wirkung zu.

Die zutage getretenen Unstimmigkeiten in der Harnstoffwirkung veranlaßten *Honcamp*[2]), seinerseits Versuche anzustellen mit zwei ausgewachsenen Hammeln, welchen bedeutend weniger Harnstoff als im *Scheunert*schen Versuch (10 gegen 30 g) gegeben wurde. Der Harnstoff wurde im Vergleich zu Casein verabreicht, und zwar in einer Periode nur als Zulage zu Rauhfutter, in einer anderen Periode als Zulage zu leichtlöslichen und verdaulichen Kohlehydraten. Im ersteren Falle wurde der Harnstoff nahezu quantitativ durch die Nieren wieder ausgeschieden, dagegen konnte bei gleichzeitiger Beifütterung leichtlöslicher Kohlehydrate mit Harnstoff ein deutlicher Stickstoffansatz erzielt werden. Hierdurch wird die Bakterieneiweißtheorie gestützt.

*Honcamp* nimmt an, daß zum Aufbauen von Bakterieneiweiß bestimmte Kohlehydrate (Zucker und Stärke) erforderlich sind.

Versuche mit milchgebenden Tieren wurden in den letzten Jahren von *Morgen*[3]), *Hansen*[4]), *Völtz*[5]), *Honcamp*[6]) und *Richardsen*[7]) ausgeführt. *Morgen* arbeitete in den Jahren 1918 bis 1921 mit Schafen und Ziegen und stellte auch Stickstoffbilanzen auf, deren Ergebnisse aber widerspruchsvoll waren, so daß *Morgen* von der Veröffentlichung der Bilanzen Abstand nahm. Die Wirkung des Reineiweiß auf die Milchleistung bei einem Ersatz von Harnstoff wurde nur zu 85 Proz. erreicht. Lediglich der Fettgehalt der Milch wies eine Erhöhung auf.

Zu den Versuchen *Hansens* dienten Kühe ohne Berücksichtigung des Stoffwechsels. Der Ersatz wurde so weit getrieben, daß der Reineiweißgehalt unter dem Stickstoffminimum lag. Die Milchleistung erlitt einen nur unwesentlichen Rückgang, dagegen war das Körpergewicht erheblichen

---

[1]) Diese Zeitschr. **133**, 137, 1922.
[2]) Ebendaselbst **138**, 461, 1923.
[3]) L. V. St. **99**, 4 und 359, 1921.
[4]) Landw. Jahrb. **57**, 1, 1922.
[5]) Diese Zeitschr. **130**, 323, 1922.
[6]) Zeitschr. f. angew. Chem. **36**, 45, 1922.
[7]) Fühlings landw. Ztg. **71**, 325, 1922.

Schwankungen ausgesetzt, in den Abschnitten mit Vergleichsfutter der Reihe 3, 4 und 6 erfolgte regelmäßig eine Zunahme, in den Ersatzperioden ebenso regelmäßig eine Abnahme. *Hansen*[1]) hält es nicht für ausgeschlossen, daß das Körpereiweiß zur Milchbildung herangezogen wurde. Ölkuchen war dem Harnstoff überlegen (Versuchsreihe 7).

Immerhin glaubt *Hansen* den Schluß zu ziehen, daß Harnstoffstickstoff den Eiweißstickstoff zu einem nicht unerheblichen Teil ersetzen kann.

Diese Versuche *Hansens* forderten eine eingehende Kritik *Pfeiffers*[2]) heraus. *Pfeiffer* führt aus, daß der Harnstoff infolge der Lebendgewichtsabnahme einen bedeutenden Energieverlust verursacht hat, welcher nur auf einen Fleisch- oder Fettverlust des Körpers zurückgeführt werden kann. Mit Recht betont *Pfeiffer*, daß bei unterernährten Kühen, wie dies in dem *Hansen*schen Versuch zum Teil der Fall ist, bekanntlich Körpersubstanz als Eiweißquelle benutzt wird. Nach *Pfeiffers* Berechnung ist die Wirkung des Harnstoffs auf die Milchleistung um 37 Proz. hinter derjenigen des Eiweiß zurückgeblieben. Zu einem Ersatz von 1 kg Eiweiß wären 0,42 kg Harnstoff und 3,29 kg Stärkewert erforderlich; die Harnstoffütterung wäre also wirtschaftlich ein Unding.

In den *Völtz*schen Versuchen mit Milchkühen wurden die Milcherträge durch Harnstoffzulagen erhöht, wenn von eiweißarmen Rationen ausgegangen wurde. Erdnußkuchen war dem Harnstoff überlegen.

*Honcamp* ebenso wie *Richardsen* konnten die *Völtz*schen Versuche bestätigen.

Versuche mit Glykokoll an milchgebenden Wiederkäuern sind bisher nicht ausgeführt worden. Der Gedanke liegt nahe, daß Glykokoll ebenso wie Asparagin und Harnstoff ein ausgezeichneter Nährboden für die Pansenbakterien bildet und so ebenfalls eine indirekte Eiweißwirkung äußert.

*F. Röhmann*[3]) studierte an Kaninchen den Einfluß des Glykokolls auf die Glykogenbildung der Leber; bei gleichzeitiger Kohlehydratgabe verursacht Glykokoll eine Vermehrung des Glykogens. *Lüthje*[4]) erzielte bei Verfütterung von Glykokoll an Hunden positive Stickstoffbilanzen bei gleichzeitiger Kohlehydratzulage; er nimmt die Bildung von Aminozucker an. *Abderhalden*[5]) beobachtete bei Ratten positive Stickstoffbilanzen, hält aber Glykokoll für ersetzbar[6]), da der tierische Organismus Glykokoll in großen Mengen selbst bereitet. Nach *Völtz*[7]) begünstigte Glykokoll nicht die Stickstoffbilanzen. Nach *W. Blume*[8]) wird Glykokoll verschieden ausgenutzt, beim Menschen betrug der Glykokollverlust 80 Proz.,

---

[1]) a. a. O., S. 178.
[2]) Fühlings landw. Ztg. **71**, 313, 1922.
[3]) Pflügers Arch. **39**, 31, 1886.
[4]) Ebendaselbst **113**, 547, 1906.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **96**, 54, 1915/16.
[6]) Ebendaselbst **76**, 1, 1915.
[7]) Pflügers Arch., a. a. O.
[8]) Beitr. z. Phys. **1**, 385, 1920.

während bei einem Ferkel sich die Glykokollabgabe durch die Nieren nur auf 7 Proz. stellte. Der Versuchsansteller glaubt, daß diese Aminosäure als Brennmaterial für den Organismus in Frage kommt.

Es ist eine unbestreitbare Tatsache, daß nicht eiweißartige Stickstoffverbindungen in Rationen mit weitem Nährstoffverhältnis das Eiweiß in einem gewissen Umfange zu vertreten vermögen und an der Milchbildung beteiligt sind. Ungeklärt ist aber die Frage, ob die Amidsubstanzen imstande sind, das Futtereiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit zu ersetzen. Nur in diesem Sinne wäre ein Ersatz durch künstliche Stickstoffverbindungen lohnend.

### Besprechung der Versuche.

Als Ersatzstoffe standen Harnstoff und Glykokoll, die in dankenswerter Weise von der badischen Anilin- und Sodafabrik, Ludwigshafen, zu diesem Zwecke kostenlos zur Verfügung gestellt wurden, bereit.

Die Versuche wurden im Jahre 1922 mit sechs frischmelkenden Ziegen, welche sich ungefähr im gleichen Lactationsstadium befanden, ausgeführt. Vier Tiere dienten gleichzeitig zu Bilanzversuchen und befanden sich während der ganzen Versuchsdauer in mit Blech ausgeschlagenen Zwangsställen zur getrennten Auffangung von Kot und Harn nach dem Muster der landwirtschaftlichen Versuchsstation Leipzig-Möckern. Der Harn wurde täglich gesammelt, zur Vermeidung von Stickstoffverlusten mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit den Spülwässern der Zwangsställe auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und der Stickstoff nach dem Verfahren von *Kjeldahl* bestimmt. Der Kot wurde täglich frisch gewogen, gut gemischt, der 20. Teil davon bei 70° C 24 Stunden nach dem Durchfeuchten mit Oxalsäurelösung getrocknet, lufttrocken gewogen und die täglichen Kotproben vereinigt, um am Ende einer jeden Periode vollständig untersucht zu werden. Die Werte beziehen sich auf absolute Trockenmasse. Die Untersuchung des so vorbereiteten lufttrockenen Kotes erstreckte sich auch auf die Bestimmung des Stickstoffs nach *Kjeldahl*, nachdem vergleichende Untersuchungen mit frischem Kote ergeben hatten, daß keine Stickstoffverluste während des Trocknens eingetreten waren. Als Belege führe ich folgende Zahlen an:

| | 1. Proz. N | 2. Proz. N | |
|---|---|---|---|
| Ziege 1, frischer Kot | 1,587 | 1,546 | bezogen auf Kottrockensubstanz |
| „ 1, getrockneter Kot | 1,572 | 1,573 | |
| „ 2, frischer Kot | 1,726 | 1,744 | |
| „ 2, getrockneter Kot | 1,730 | 1,740 | |
| „ 3, frischer Kot | 1,760 | 1,792 | |
| „ 3, getrockneter Kot | 1,804 | 1,824 | |

Das Trocknen des Kotes ohne oder mit Säurezusatz hat nach *Kellners*[1]) und *Honcamps*[2]) Feststellungen zum Teil erhebliche Ammoniakverluste zur Folge, während *Pfeiffer*[3]), ebenso *Henneberg* und *Stohmann*[4]) nur belanglose Unterschiede fanden, die durchaus innerhalb der Fehlergrenze lagen. *Pfeiffer* und *Friske*[5]) erhielten dagegen trotz des Säurezusatzes Verluste bis zu 7 Proz., deren Höhe nicht gedeutet werden konnte trotz verschiedener Mutmaßungen (Wasserverdunstung während des Abwiegens, Einfluß der Nahrung, nicht genügendes Eindringen der Säure in den Kot). Der frische, gut durchgemischte Ziegenkot einer Tagesausscheidung, so wie er hier zur Stickstoffbestimmung benutzt wurde, reagierte auch ohne Säurezusatz schwach sauer, wenn ein angefeuchteter blauer Lackmuspapierstreifen dagegen gedrückt wurde; die Gefahr einer Ammoniakentbindung beim Trocknen ohne Säurezusatz kann aus diesem Grunde nicht groß sein. Statt der Mineralsäure wurde die schwächere Oxalsäure gewählt[6]), um einer Veränderung des Eiweiß und der Rohfaser während des Trocknens vorzubeugen.

Kleine Harnverluste durch Verdunstung waren bei der Art der verwendeten Zwangsställe nicht zu vermeiden. Die Bilanzversuche sind daher nicht so vollkommen, als wenn Harntrichter verwendet worden wären, andererseits werden die Tiere nicht durch das Anlegen der Vorkehrungen zur getrennten Aufsammlung von Kot und Harn beunruhigt, wobei leicht das Hauptergebnis, auf das hier besonders Gewicht gelegt wird, die Milchproduktion gefährdet werden kann. Es sei gleich vorausgeschickt, daß sich die Tiere während der ganzen Versuchsdauer wohl befanden.

Da die Ziegen erst im Monat Mai angekauft waren, mußten sie zunächst an die veränderte Lebensweise gewöhnt werden. Dies hatte zur Folge, daß mit dem eigentlichen Versuch später als beabsichtigt begonnen wurde.

Insgesamt gelangten sieben Perioden zur Ausführung, vier Grundfutterperioden und drei Ersatzperioden in der Weise, daß jede Ersatzperiode von zwei Grundfutterperioden eingeschlossen war. Der Ersatz durch nichteiweißartige künstliche Stickstoffverbindungen war so gedacht, daß *ein gewisser Prozentsatz des nach Stutzer mit Pepsinsalz-*

---

[1]) L. V. St. **47**, 289, 1896; Zeitschr. f. Biol. **39**, 334, 1900.
[2]) Diese Zeitschr. **138**, 464, 1923.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**, 7, 1887.
[4]) Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer **2**, 265 und 376; zitiert bei *Pfeiffer* und *Friske*, L. V. St. **74**, 422, 1911.
[5]) L. V. St. **74**, 409, 1911.
[6]) Bereits von *Kellner* benutzt. Zeitschr. f. Biol. **39**, 364, 1900.

*säure bestimmten verdaulichen Stickstoffs bei gleichbleibendem Gehalt an Stärkewert durch eine an Stickstoff gleiche Menge der synthetischen Stickstoffbindungen ersetzt wurde unter der Annahme ihrer vollständigen Resorbierbarkeit.* Hiernach kam in der ersten Ersatzperiode eine mittlere, in der zweiten eine stärkere Harnstoffgabe und in der dritten Periode Glykokoll zur Anwendung. Die Verdaulichkeit des Rohproteins wurde nach dem *Stutzer*schen Verfahren festgestellt, da die künstlichen Verdauungskoeffizienten mit den am Tiere ermittelten annähernd übereinstimmen[1]), wenn man die in Pepsinsalzsäure löslichen Verdauungssäfte des Kotes in Rechnung stellt[2]). Wie sich im Verlauf des Versuches jedoch ergab, war die Übereinstimmung der beiden auf verschiedenem Wege ermittelten Koeffizienten nicht so gut. Die *Stutzer*schen Zahlen lagen zumal in den Grundfutterperioden um einige Prozent niedriger.

An natürlichen Amiden reiche Futtermittel waren nach Möglichkeit zu vermeiden, um den Einfluß der zugelegten künstlichen Stoffe deutlicher hervortreten zu lassen. Zur Fütterung gelangten: Wiesenheu mittlerer Güte, Kleeheu, Hafer, Weizenschalen, Leinkuchenmehl, Kristallzucker und als eiweißreiche Zulage Trockenhefe[3]). Das gesamte Heu wurde gehäckselt, gemischt und für jede Periode und für jedes Tier im voraus abgewogen.

Die prozentische Zusammensetzung der Futtermittel war folgende (s. Tabelle I). Auf Grund der sich bei der Probefütterung ergebenden Milcherträge, Lebendgewichtsveränderung und dem Futterverzehr erhielten die Tiere als Ration in den Grundfutterperioden folgende Futtermengen (s. Tabelle II).

Als Mineralbestandteile wurden in allen Perioden gleichmäßig 15 g Chlornatrium und 5 g Dicalciumphosphat verabreicht. Leider verweigerten die Tiere die Aufnahme einer größeren Menge der sehr bitter schmeckenden Trockenhefe, so daß bei dem Ausgleich in den Ersatzperioden außer der Hefe noch andere Futtermittel ausgetauscht werden mußten. Die näheren Angaben hierüber erfolgen an den gegebenen Stellen.

Der Stärkewert wurde in bekannter Weise berechnet.

---

[1]) *G. Kühn*, L. V. St. **44**, 188, 1894; zitiert in *Kellners* Ernähr. d. landw. Nutztiere **42**, 8. Aufl., siehe auch *K. v. Dambski*, Dissertation Breslau 1903.

[2]) L. V. St. **85**, 1, 1914.

[3]) Heu und Hafer wurden von den Herren Dr. *Paul Schottländer*, Schloß Hartlieb, Frhr. *v. Richthofen*, *Tschachawe*, Güterdirektor *Hellmich*, *Hundsfeld* und Prof. Dr. *Berkner*, Versuchsfeld Rosenthal, kostenlos zur Verfügung gestellt, wofür den genannten Herren ganz besonders gedankt sei.

*Tabelle I.*

Prozentige Zusammensetzung der Futtermittel.

| | Heu | Weizenschalen | Hafer | Trockenhefe | Leinkuchenmehl | Glykokoll | Harnstoff | Zucker |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Trockensubstanz | 88,70 | 88,90 | 92,50 | 88,90 | 90,60 | — | 99,59 | 99.54 |
| Mineralstoffe | 7,72 | 5,62 | 3,51 | 6,55 | 10,81 | — | — | 0,28 |
| Organ. Substanz | 80,98 | 83,28 | 88,99 | 82,35 | 79,79 | — | 99,59 | 99,26 |
| Gesamtstickstoff | 1,77 | 1,97 | 1,76 | 7,77 | 3,97 | 18,63 | 46,27 | — |
| Rohprotein | 11,00 | 12,31 | 10,99 | 48,57 | 24,81 | — | — | — |
| Verdaul. Rohprotein nach *Stutzer* | 6,94 | 10,85 | 9,99 | 40,12 | 21,14 | — | — | — |
| Reineiweiß | 10,20 | 12,25 | 10,99 | 40,08 | 22,83 | — | — | — |
| Amidsubstanzen | 0,80 | 0,06 | — | 8,49 | 1,98 | — | — | — |
| Rohfett | 2,49 | 2,94 | 2,74 | 1,19 | 9,92 | — | — | — |
| Rohfaser | 25,09 | 21,17 | 10,25 | — | 9,12 | — | — | — |
| N-freie Extraktstoffe | 42,40 | 47,86 | 65,01 | 32,59 | 35,94 | — | — | — |

In den Grundfutterperioden I, III, V, VII wurden somit gefüttert:

| | Verdautes Rohprotein kg | Stärkewert nach *Kellner* kg | Körpergewicht kg | Milchleistung kg |
|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 4,04 | 19,63 | 41,59 | 47,9 |
| „ 2 | 4,99 | 22,90 | 37,74 | 44,6 |
| „ 3 | 5,01 | 23,25 | 39,40 | 63.5 |
| „ 4 | 3,78 | 18,01 | 39,51 } 38,13 | 33,2 |
| „ 5 | 3,78 | 18,01 | 36,76 } | 33,8 |
| „ 6 | 4,72 | 20,95 | 35,62 | 54,8 |
| Mittel | 4,39 | 20,46 | 38,44 | 46,3 |

Nach *Kellners*[1]) Versuchen mit Milchkühen sind zur Erzeugung von 10 kg Milch mittlerer Zusammensetzung rund 2 kg Stärkewert mit 0,55 bis 0,65 kg Reineiweiß erforderlich. Zu dem Bedarf für die Milchproduktion kommt noch derjenige für die Erhaltung mit 2 bis 2,5 kg Stärkewert und 0,3 kg Eiweiß je 500 kg Lebendgewicht hinzu. Von diesem Gesichtspunkte betrachtet, wären die Futterrationen reichlich hoch bemessen. Die Untersuchungen *Kellners* über den Stoff- und Energieumsatz des erwachsenen Rindes[2]) lehren, daß der Mindestbedarf zur Erhaltung verschieden großer Tiere von ähnlicher Körperbeschaffenheit nicht proportional dem Lebendgewicht wächst, sondern von der Oberflächenentwicklung abhängt, und daß zur Berechnung die *Meeh*sche[3]) Formel benutzt werden kann. Bezeichnet man die

[1]) Ernährung d. landw. Nutztiere, 8. Aufl., S. 612.
[2]) L. V. St. 53, 12. 1900.
[3]) Zeitschr. f. Biol. 15, 425, 1879.

*Tabelle II.*

Zusammensetzung der Ration der Grundfutterperioden I, III, V, VII.

| | Trockensubstanz | Organische Substanz | Gesamt-N | Rohprotein | Verdauliches Rohprotein | Reineiweiß | Amidsubstanz | Rohfett | Rohfaser | N-freie Extraktstoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Ziege 1 und 6** | | | | | | | | | | |
| Heu . . . 1200 g | 1064,40 | 971,76 | 21,19 | 132,00 | 83,28 | 122,40 | 9,60 | 29,88 | 301,08 | 508,80 |
| Leinkuchenmehl . . 150 g | 135,90 | 119,70 | 5,95 | 37,20 | 31,71 | 34,20 | 2,97 | 14,88 | 13,68 | 53,91 |
| Weizensch. 200 g | 177,80 | 166,56 | 3,94 | 24,62 | 21,70 | 24,50 | 0,12 | 5,88 | 42,34 | 95,72 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 135,02 |
| Hefe . . . 100 g | 88,90 | 82,35 | 7,70 | 48,57 | 40,12 | 40,08 | 8,49 | 1,19 | — | 32,59 |
| Zucker . . 50 g | 49,77 | 49,63 | — | — | — | — | — | — | — | 49,63 |
| | 1701,77 | 1567,98 | 42,30 | 264,37 | 196,79 | 243,16 | 21,18 | 57,31 | 377,60 | 870,67 |
| **Ziege 2** | | | | | | | | | | |
| Heu . . . . 1000 g | 887,00 | 809,80 | 17,65 | 110,00 | 69,40 | 102,00 | 8,00 | 24,90 | 250,90 | 424,00 |
| Leinkuchenmehl . . 300 g | 271,80 | 239,40 | 11,91 | 74,40 | 62,42 | 68,40 | 5,84 | 29,76 | 27,36 | 107,82 |
| Weizensch. 200 g | 177,80 | 166,56 | 3,94 | 24,62 | 21,70 | 24,50 | 0,12 | 5,88 | 42,34 | 95,72 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Hefe . . . 100 g | 88,90 | 82,35 | 7,77 | 48,57 | 40,12 | 40,08 | 8,49 | 1,19 | — | 32,59 |
| Zucker . . 50 g | 49,77 | 49,63 | — | — | — | — | — | — | — | 49,63 |
| | 1660,27 | 1525,72 | 44,79 | 279,57 | 213,62 | 256,96 | 22,45 | 67,21 | 341,10 | 839,78 |
| **Ziege 3** | | | | | | | | | | |
| Heu . . . . 1200 g | 1064,40 | 971,76 | 21,19 | 132,00 | 83,28 | 122,40 | 9,60 | 29,88 | 301,08 | 508,80 |
| Leinkuchenmehl . . 300 g | 271,80 | 239,40 | 11,91 | 74,40 | 62,42 | 68,40 | 5,84 | 29,76 | 27,36 | 107,82 |
| Weizensch. 200 g | 177,80 | 166,56 | 3,94 | 24,62 | 21,70 | 24,50 | 0,12 | 5,88 | 42,34 | 95,72 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Hefe . . . 100 g | 88,90 | 82,35 | 7,77 | 48,57 | 40,12 | 40,08 | 8,49 | 1,19 | — | 32,59 |
| Zucker . . 50 g | 49,77 | 49,63 | — | — | — | — | — | — | — | 49,63 |
| | 1837,67 | 1687,68 | 48,33 | 301,57 | 227,50 | 277,36 | 24,05 | 72,19 | 391,28 | 924,58 |
| **Ziege 4 und 5** | | | | | | | | | | |
| Heu . . . 800 g | 709,60 | 647,84 | 14,16 | 88,00 | 55,50 | 81,60 | 6,40 | 19,92 | 200,72 | 329,20 |
| Leinkuchenmehl . . 150 g | 135,90 | 119,70 | 5,95 | 37,20 | 31,71 | 34,20 | 2,97 | 14,88 | 13,68 | 53,91 |
| Weizensch. 200 g | 177,80 | 166,56 | 3,94 | 24,62 | 21,70 | 24,50 | 0,12 | 5,88 | 42,34 | 95,72 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Hefe . . . 100 g | 88,90 | 82,35 | 7,70 | 48,57 | 40,12 | 40,08 | 8,49 | 1,19 | — | 32,59 |
| Zucker . . 50 g | 49,77 | 49,63 | — | — | — | — | — | — | — | 49,63 |
| | 1346,97 | 1244,06 | 35,27 | 220,37 | 169,01 | 202,36 | 17,98 | 47,35 | 277,24 | 691,07 |

durchschnittlichen Lebendgewichte mit $A$ und $B$, so findet man die Stärkewerte $a$ und $b$ nach der Gleichung von *Meeh*, welche lautet:

$$a:b = \sqrt[3/2]{A}:\sqrt[3/2]{B}.$$

*Pfeiffer*[1]) vergleicht bei seinen Versuchen die Rationen mit Hilfe der *Meeh*schen Angaben. Führe ich nun, dem Beispiel *Pfeiffers* folgend,

[1]) Mitteil. d. landw. Inst. Breslau **3**, 185, 1905.

die Berechnung in genannter Weise aus, so erhalte ich die weiter unten stehenden Zahlen.

Nach *Kellner*[1]) gelten als Mindestbedarf bei einem Gewicht von 500 kg 6,82 kg verdauliche organische Substanz mittleren Wiesenheues, bezogen auf 1000 kg Lebendgewicht. Auf das mittlere Gewicht der Versuchstiere umgerechnet, ergibt sich für eine Ziege im Durchschnitt eine Menge von 15,50 kg, der Stärkewert des Versuchsheues wird also folgendermaßen gefunden:

| | | Verdaulich | | Verd. St.-W. |
|---|---|---|---|---|
| 11,00 Proz. | Rohprotein zu | 57 Proz. | = | 6,27 Proz. |
| 2,49 „ | Fett zu | 51 „ | = | 1,26 „ |
| 42,40 „ | N-freie Extraktstoffe | 64 „ | = | 27,13 „ |
| 25,10 „ | Rohfaser zu | 59 „ | = | 14,80 „ |
| | | zusammen . . | | 41,93 Proz. |
| | ab für gesamte Rohfaser | 25,10 . 0,58 | = | 14,55 „ |
| | | also Stärkewert | = | 33,49 Proz. |

6,82 kg verdauliche Heusubstanz entsprechen somit 2,28 kg Stärkewert.
15,50 kg „ „ „ „ 5,26 kg „

Ziehe ich nun den Stärkewert des Erhaltungsfutters von dem des Gesamtfutters (20,46) ab, so erhalte ich den Wert für die Milchproduktion, welcher dann 15,20 kg beträgt.

Die von den Tieren erzeugte Milchmenge betrug im Durchschnitt 46,3 kg mit 5,65 kg Trockensubstanz; auf 1 kg Trockensubstanz kommen somit 2,69 kg Stärkewert.

Nach *Kellner*[2]) braucht eine Kuh bei einer Milchleistung von 10 kg je 500 kg Lebendgewicht 9,8 bis 11,2 kg an Stärkewert auf 1000 kg Lebendgewicht; nach Abzug des Erhaltungsfutters im Betrage von 2 kg bleiben für die Milchleistung 5,8 bis 7,2 kg übrig; der Trockensubstanzgehalt sei zu 12,5 Proz. angenommen; das ergibt auf 1000 kg berechnet 2,5 kg Trockensubstanz, auf 1 kg Trockensubstanz entfallen mithin 2,21 bis 2,88, im Mittel 2,54 kg Stärkewert.

Hiernach haben die Ziegen gerade die zur Produktion notwendige Menge an Nährstoffen erhalten.

Ich hielt es für notwendig, diese Berechnungsart auszuführen, zumal da über Fütterungsnormen für Ziegen wenig bekannt ist. *V. Renner*[3]) weist in einer kürzlich erschienenen Arbeit darauf hin, daß es unrichtig ist, die Milchleistung auf die Einheit des Körpergewichtes zu beziehen, und schlägt vor, die Leistungen nach dem Verhältnis des Erhaltungsbedarfs, welcher mit dem Oberflächenverhältnis überein-

---

[1]) a. a. O., S. 13.
[2]) Ernährung der landw. Nutztiere, 8. Aufl., S. 613.
[3]) Fühlings landw. Ztg. 71, 335, 1922.

Reste an Heu in den einzelnen Perioden in Gramm.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 4 | Ziege 5 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Periode I. | | | | | | |
| Im ganzen . | 110 | 647 | 412 | 160 | 947 | 170 |
| Auf den Tag | 4,4 | 25,9 | 16,5 | 6,4 | 37,9 | 6,8 |
| Periode II. | | | | | | |
| Im ganzen . | 814 | 118 | 903 | 474 | 850 | 354 |
| Auf den Tag | 38,7 | 5,6 | 43,0 | 22,5 | 40,5 | 16,8 |
| Periode III. | | | | | | |
| Im ganzen . | — | — | 123 | 179 | — | — |
| Auf den Tag | — | — | 8,7 | 12,8 | — | — |
| Periode IV. | | | | | | |
| Im ganzen . | 180 | 339 | 2039 | 125 | 439 | — |
| Auf den Tag | 5,1 | 9,6 | 58,3 | 3,6 | 12,5 | — |
| Periode V. | | | | | | |
| Im ganzen . | 329 | 307 | 472 | 457 | 683 | 1084 |
| Auf den Tag | 20,5 | 19,2 | 29,5 | 28,5 | 42,7 | 67,7 |
| Periode VI. | | | | | | |
| Im ganzen . | 2931 | 2375 | 3042 | 1038 | 900 | 2249 |
| Auf den Tag | 133,2 | 108,0 | 138,3 | 47,2 | 41,0 | 102,3 |
| Periode VII. | | | | | | |
| Im ganzen . | 4155 | 2820 | 2960 | 165 | 1538 | 842 |
| Auf den Tag | 216,7 | 148,5 | 155,8 | 8,7 | 80,9 | 44,3 |

stimmt, zu berechnen. Nach *Crowther* und *Woodmann*[1]) ist es notwendig, zwei- bis dreimal so große Eiweißgaben als Zulage zu geben, als in der Milch ausgeschieden werden, um während der Lactation das Stickstoffgleichgewicht zu erhalten. Es war beabsichtigt, den Tieren ausreichende Nahrung zuzuführen, um auch für die spätere Zeit der Lactation die volle Leistungsfähigkeit der Milchdrüsen zu sichern. Im Sinne der Fragestellung lag es nicht, vom Eiweißminimum auszugehen, es sollte vielmehr erforscht werden, ob die zur Verwendung kommenden künstlichen Nährstoffe das Futtereiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit zu ersetzen vermögen, wie dies von *Völtz*[2]) neuerdings wieder vertreten wird.

### Beginn des Versuchs.

Nachdem sich die Tiere etwa 4 Wochen lang an das Futter gewöhnt hatten und Veränderungen im Körpergewicht nicht mehr eingetreten waren, wurden die Ziegen 1, 2, 3, 6 acht Tage vor Beginn des Versuchs in die Zwangsställe gesperrt, die Ziegen 4 und 5 bewegten sich frei in Einzelställen. Die Fütterung erfolgte täglich dreimal, morgens um 7 Uhr, mittags um 12 Uhr

[1]) Journ. of Agricult. Science 12, 40, 1922.

[2]) Diese Zeitschr. 102, 220, 1920; vgl. auch *Fühlings* Landw.-Ztg. 55, 160, 1906.

und abends um 6 Uhr. Das Beifutter wurde mit heißem Wasser angerührt, in zwei Gaben morgens und abends als Tränke gereicht, mittags nur Wasser gegeben; im ganzen wurden 9 Liter Wasser verabfolgt. Das Heu wurde in die Krippe geschüttet, zuweilen blieben geringe Reste (s. Tabelle S. 285), welche gesammelt wurden, um später analysiert zu werden. Die Tränke wurde stets restlos aufgenommen. Morgens um 7 Uhr und abends um 6 Uhr wurde im Anschluß an die Fütterung gemolken.

Am 28. Juni wurde mit dem Aufsammeln von Harn, Kot und Milch begonnen. Die Untersuchung der Milch erstreckte sich auf die tägliche Bestimmung des Fettes nach *Gerber* und der Trockensubstanz im Glycerintrockenschrank bei 105° in der aus den einzelnen Tagesmelken hergestellten Mischmilch. Außerdem wurden den einzelnen Gemelken entsprechende aliquote Teile täglich gesammelt, um am Ende einer jeden Periode auf Mineralstoffe und Rohprotein (6,25 statt 6,37 g N wegen des Vergleichs mit dem Protein der Nahrung) untersucht zu werden. Der Milchzucker wurde unter der Bezeichnung stickstofffreie Extraktstoffe durch Differenz berechnet. Die Konservierung der Milch geschah mit Chloroform. Die Bestimmung des Körpergewichts erfolgte am 28. Juni, am 4. Juli und vom 13. Juli ab täglich. Ziege 6 erkrankte am Euter 3 Tage vor Beginn des Versuchs, wahrscheinlich infolge Insektenstiches, erholte sich jedoch in einigen Tagen, so daß am 7. Juli mit dem Aufsammeln der Stoffwechselprodukte begonnen werden konnte.

## Periode I: Grundfutterperiode.

Da die Tiere 8 Tage vor Beginn des Versuchs in die Zwangsställe gebracht worden waren und die Futterrationen schon 5 Wochen lang erhielten, war es unnötig, die ersten Tage als Vorperiode auszuschalten.

In Tabelle III sind die Ergebnisse der Periode I hinsichtlich des Ertrages an Milch und Milchbestandteilen angeführt (s. S. 287).

### *Menge und Gehalt der Milch.*

1. *Milchmenge und Trockensubstanz.* Die tägliche Milcherzeugung zeigt keinen regelmäßigen Verlauf, bald steigt sie an, bald fällt sie. Um einen besseren Überblick über die Schwankungen zu gewinnen, wurden aus der Periode drei Abschnitte gebildet. Bei den Tieren 1, 2, 5 und 6 verläuft die Produktion normal, d. h., die Menge nimmt mit fortschreitender Lactation trotz der täglichen Schwankungen von Woche zu Woche regelmäßig ab. Bei Ziege 1 tritt die Depression im letzten Drittel rascher ein, es macht sich vermutlich der am 18. Juli notwendig gewordene Wechsel im Melkpersonal nachteilig bemerkbar. Ziege 1 war schon von Beginn an schwierig auszumelken und erforderte eine geübte Hand, bei Ziege 3 stieg die Milchproduktion im zweiten Abschnitt unerwartet an, ob hier individuelle Eigenschaften mitwirken, wird schwierig zu entscheiden sein. Den Tieren war genügend lange Zeit gelassen worden, sich an die andersartige Fütterungsweise zu gewöhnen (Übergang von der Grün- zur Trockenfütterung); es hinterblieben nur geringe Heureste. Bei Ziege 4 können äußere Einflüsse mitspielen, dies Tier fühlte sich entschieden wohler, da es sich nicht im Zwangsstalle befand. Die Mittelzahlen wurden aus der ganzen 25 Tage währenden Periode, die absichtlich wegen des Personalwechsels so lange ausgedehnt worden war, berechnet, so daß eine genügende Ausgeglichenheit gewährleistet ist. Über Rohprotein und Milchzucker ist nichts Wesentliches zu sagen (siehe Tabelle auf S. 289).

*Tabelle III.* Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode I.

| Tag | Milchmenge | | | | | | Fettgehalt | | | | | | | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | |
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| 28. VI. | 2085 | 1700 | 2239 | 1585 | 1538 | 945 | 3,25 | 67,85 | 3,85 | 65,50 | 2,95 | 63,75 | 3,50 | 55,50 | 2,90 | 44,55 | 4,10 | 38,72 | 18 |
| 29. VI. | 2246 | 1799 | 2419 | 1460 | 1502 | 1281 | 3,55 | 79,99 | 3,60 | 64,70 | 2,65 | 63,71 | 3,70 | 54,11 | 3,70 | 55,70 | 4,00 | 51,40 | 18 |
| 30. VI. | 2170 | 1797 | 2632 | 1388 | 1596 | 1800 | 2,90 | 45,45 | 4,20 | 75,50 | 2,75 | 72,45 | 3,70 | 51,42 | 3,50 | 55,91 | 3,50 | 63,01 | 17 |
| 1. VII. | 1849 | 1684 | 2235 | 1276 | 1425 | 2002 | 3,15 | 57,25 | 4,20 | 70,75 | 2,85 | 63,70 | 3,65 | 46,61 | 3,85 | 54,92 | 3,65 | 73,42 | 18 |
| 2. VII. | 2132 | 1663 | 2362 | 1100 | 1491 | 1745 | 3,60 | 76,80 | 4,20 | 70,00 | 2,95 | 69,90 | 3,90 | 42,95 | 3,50 | 52,25 | 3,50 | 61,10 | 17 |
| 3. VII. | 2191 | 1788 | 2416 | fällt aus | 1609 | 1951 | 3,45 | 75,40 | 4,10 | 73,48 | 2,70 | 67,55 | fällt | aus | 3,70 | 61,11 | 3,70 | 72,28 | 19 |
| 4. VII. | 1977 | 1703 | 2441 | 1161 | 1225 | 1911 | 3,55 | 70,20 | 4,10 | 70,00 | 2,60 | 63,65 | 4,15 | 48,30 | 3,75 | 45,92 | 3,35 | 64,02 | 20 |
| 5. VII. | 2236 | 1760 | 2573 | 1393 | 1380 | 2291 | 3,40 | 75,98 | 3,75 | 64,25 | 2,55 | 68,15 | 3,95 | 55,10 | 3,70 | 51,05 | 3,85 | 83,00 | 22 |
| Mittel des 1. Abschnitts . | **2110** | **1737** | **2485** | **1338** | **1481** | **1933** | | **68,61** | | **68,02** | | **66,61** | | **50,57** | | **52,68** | | **69,47** | |
| 6. VII. | 2099 | 1874 | 2749 | 1385 | 1398 | 1964 | 2,90 | 60,61 | 3,85 | 72,15 | 2,20 | 60,50 | 3,50 | 48,50 | 3,90 | 54,40 | 3,55 | 69,72 | 22 |
| 7. VII. | 1967 | 1821 | 2587 | 1362 | 1488 | 2156 | 3,00 | 59,01 | 3,45 | 62,96 | 2,20 | 56,97 | 3,75 | 51,17 | 3,70 | 55,01 | 3,30 | 71,08 | 19 |
| 8. VII. | 1865 | 1770 | 2590 | 1209 | 1398 | 2099 | 3,25 | 60,55 | 3,50 | 61,90 | 2,35 | 60,85 | 3,45 | 41,60 | 3,35 | 45,55 | 3,30 | 69,27 | 20 |
| 9. VII. | 2154 | 1682 | 2644 | 1478 | 1446 | 2201 | 3,75 | 80,95 | 3,65 | 61,50 | 2,45 | 65,00 | 3,65 | 53,90 | 3,35 | 48,49 | 3,50 | 70,45 | 24 |
| 10. VII. | 1960 | 1580 | 2518 | 1484 | 1532 | 2192 | 3,20 | 62,75 | 3,65 | 57,75 | 2,40 | 60,50 | 4,00 | 59,50 | 3,40 | 52,20 | 3,30 | 74,33 | 22 |
| 11. VII. | 2065 | 1693 | 2819 | 1589 | 1480 | 2135 | 3,25 | 67,20 | 3,80 | 63,50 | 2,35 | 63,50 | 3,70 | 69,83 | 3,65 | 51,61 | 3,45 | 73,65 | 22 |
| 12. VII. | 1974 | 1512 | 2565 | 1361 | 1423 | 1860 | 3,15 | 62,10 | 4,20 | 63,65 | 2,30 | 59,10 | 3,65 | 49,90 | 3,30 | 47,05 | 3,50 | 65,00 | 20 |
| 13. VII. | 2135 | 1648 | 2613 | 1516 | 1373 | 2172 | 3,00 | 64,05 | 3,80 | 62,51 | 2,25 | 58,90 | 3,55 | 54,00 | 3,55 | 48,95 | 3,30 | 71,67 | 19 |
| Mittel des 2. Abschnitts . | **2027** | **1698** | **2635** | **1423** | **1433** | **1980** | | **64,43** | | **63,24** | | **60,66** | | **53,55** | | **50,42** | | **70,65** | |
| 14. VII. | 2099 | 1695 | 2609 | 1515 | 1508 | 2041 | 3,45 | 72,43 | 4,00 | 67,80 | 2,40 | 62,60 | 3,85 | 58,47 | 3,65 | 55,10 | 3,75 | 76,65 | 17½ |
| 15. VII. | 1966 | 1606 | 2505 | 1350 | 1450 | 1897 | 3,05 | 60,00 | 4,05 | 65,05 | 2,40 | 60,20 | 3,35 | 45,25 | 3,45 | 50,00 | 3,25 | 61,53 | 17 |
| 16. VII. | 1920 | 1654 | 2493 | 1432 | 1413 | 1913 | 3,10 | 67,91 | 4,10 | 67,50 | 2,40 | 59,80 | 3,40 | 48,95 | 3,40 | 48,20 | 3,45 | 66,10 | 19 |
| 17. VII. | 1915 | 1643 | 2573 | 1416 | 1445 | 1851 | 3,00 | 57,50 | 3,70 | 61,00 | 2,40 | 61,80 | 3,70 | 52,50 | 3,50 | 50,65 | 3,50 | 64,96 | 18 |
| 18. VII.*) | 1879 | 1523 | 2539 | 1275 | 1380 | 1870 | 3,75 | 70,49 | 4,10 | 62,55 | 2,65 | 67,25 | 3,75 | 47,95 | 3,75 | 51,80 | 3,50 | 65,50 | 15 |
| 19. VII. | 1815 | 1621 | 2402 | 1235 | 1367 | 1924 | 3,75 | 68,10 | 4,10 | 66,50 | 2,95 | 71,05 | 4,10 | 50,60 | 3,85 | 52,60 | 3,80 | 73,25 | 16 |
| 20. VII. | 1699 | 1580 | 2290 | 1251 | 1257 | 2097 | 3,75 | 63,61 | 4,00 | 63,30 | 2,35 | 53,85 | 4,25 | 53,40 | 4,25 | 53,50 | 3,50 | 73,39 | 16 |
| 21. VII. | 1767 | 1648 | 2379 | 1341 | 1255 | 1941 | 3,70 | 65,49 | 4,05 | 66,75 | 2,90 | 68,96 | 4,10 | 55,03 | 4,20 | 52,83 | 3,50 | 67,93 | 16½ |
| 22. VII. | 1642 | 1638 | 2321 | 1281 | 1251 | 1932 | 3,25 | 53,50 | 4,20 | 69,93 | 3,15 | 73,36 | 4,00 | 51,24 | 3,90 | 48,95 | 3,75 | 72,45 | 17½ |
| Mittel des 3. Abschnitts . | **1856** | **1623** | **2457** | **1344** | **1369** | **1940** | | **64,33** | | **65,59** | | **64,31** | | **51,48** | | **51,51** | | **69,09** | |
| Mittel der Periode I . . | **1992** | **1683** | **2503** | **1314** | **1425** | **1951** | **3,33** | **67,33** | **3,93** | **66,04** | **2,56** | **63,88** | **3,61** | **49,84** | **3,63** | **51,52** | **3,55** | **69,72** | 18,8 |

*) Wechsel im Melkpersonal.

*Tabelle III* (Fortsetzung). Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode I.

| Tag | Trockensubstanz Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 4 | | Ziege 5 | | Ziege 6 | | Körpergewicht Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 4 | Ziege 5 | Ziege 6 | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | kg | kg | kg | kg | kg | kg | Grad |
| 28. VI. | 10,62 | 222,0 | 12,68 | 223,9 | 11,43 | 246,5 | 11,71 | 186,0 | 11,48 | 176,1 | 12,32 | 107,0 | 41,04 | 37,00 | 37,62 | 41,33 | 36,58 | 35,02 | 18 |
| 29. VI. | 12,22 | 273,0 | 12,75 | 229,1 | 11,95 | 287,9 | 12,24 | 179,0 | 12,27 | 184,6 | 12,53 | 161,1 | | | | | | | 18 |
| 30. VI. | 11,21 | 244,0 | 12,91 | 232,1 | 11,35 | 299,1 | 11,82 | 164,1 | 11,57 | 184,3 | 11,70 | 210,6 | | | | | | | 17 |
| 1. VII. | 11,65 | 215,6 | 13,24 | 223,5 | 12,34 | 276,0 | 11,49 | 146,5 | 11,99 | 170,9 | 11,68 | 232,2 | | | | | | | 18 |
| 2. VII. | 12,26 | 261,7 | 13,21 | 220,2 | 12,03 | 285,0 | 12,58 | 138,1 | 12,40 | 185,1 | 12,10 | 211,2 | | | | | | | 17 |
| 3. VII. | 11,96 | 261,0 | 12,82 | 229,5 | 12,05 | 290,5 | fällt | aus | 12,04 | 193,9 | 11,80 | 230,2 | | | | | | | 19 |
| 4. VII. | 12,08 | 238,0 | 13,06 | 221,5 | 11,48 | 280,5 | 12,76 | 148,1 | 12,50 | 153,1 | 12,00 | 229,3 | 41,16 | 36,59 | 39,12 | 36,38 | 35,35 | 36,13 | 20 |
| 5. VII. | 12,05 | 269,0 | 12,79 | 224,5 | 11,57 | 297,5 | 12,46 | 174,0 | 12,32 | 170,3 | 11,70 | 268,0 | | | | | | | 22 |
| Mittel des 1. Abschnitts. | | ***248,0*** | | ***225,5*** | | ***282,8*** | | ***161,1*** | | ***177,3*** | | ***230,2*** | | | | | | | |
| 6. VII. | 11,55 | 242,0 | 12,70 | 248,0 | 11,03 | 303,9 | 12,19 | 168,9 | 12,37 | 173,0 | 11,73 | 230,3 | | | | | | | 22 |
| 7. VII. | 11,65 | 229,0 | 12,44 | 227,5 | 10,98 | 284,0 | 12,30 | 168,0 | 12,22 | 180,5 | 11,60 | 250,1 | | | | | | | 19 |
| 8. VII. | 11,74 | 219,0 | 12,56 | 222,1 | 11,08 | 286,5 | 10,97 | 132,5 | 11,88 | 165,8 | 11,60 | 243,5 | | | | | | | 20 |
| 9. VII. | 12,07 | 260,0 | 12,64 | 213,1 | 11,38 | 301,5 | 12,29 | 181,1 | 11,95 | 173,0 | 11,09 | 244,1 | | | | | | | 24 |
| 10. VII. | 11,75 | 230,1 | 12,63 | 200,0 | 11,30 | 284,3 | 12,53 | 186,2 | 12,71 | 195,5 | 11,50 | 252,1 | | | | | | | 22 |
| 11. VII. | 11,86 | 245,4 | 12,85 | 218,0 | 11,33 | 319,9 | 12,32 | 195,8 | 12,19 | 180,8 | 11,51 | 245,9 | | | | | | | 22 |
| 12. VII. | 11,72 | 231,5 | 13,15 | 199,1 | 11,10 | 285,0 | 12,03 | 164,1 | 11,64 | 166,0 | 11,58 | 215,4 | | | | | | | 20 |
| 13. VII. | 11,61 | 248,0 | 13,00 | 214,0 | 11,16 | 291,2 | 12,17 | 184,8 | 12,10 | 161,2 | 11,60 | 251,9 | 43,74 | 38,31 | 41,48 | 40,25 | 37,66 | 36,47 | 19 |
| Mittel des 2. Abschnitts. | | ***238,1*** | | ***220,2*** | | ***294,5*** | | ***172,7*** | | ***166,2*** | | ***241,7*** | | | | | | | |
| 14. VII. | 11,99 | 250,8 | 12,78 | 216,5 | 11,43 | 299,0 | 12,31 | 187,0 | 11,41 | 172,2 | 11,74 | 239,6 | 41,40 | 37,55 | 38,75 | 40,50 | 36,57 | 35,43 | 17½ |
| 15. VII. | 11,75 | 231,0 | 12,87 | 206,3 | 12,18 | 305,0 | 12,30 | 166,0 | 11,82 | 171,9 | 11,77 | 233,1 | 41,35 | 39,47 | 39,45 | 40,90 | 38,76 | 36,00 | 17 |
| 16. VII. | 11,74 | 257,0 | 12,96 | 227,4 | 11,92 | 297,1 | 11,82 | 170,0 | 11,92 | 169,0 | 11,64 | 222,6 | 42,00 | 37,31 | 37,62 | 41,30 | 39,10 | 35,62 | 19 |
| 17. VII. | 11,99 | 229,9 | 12,93 | 213,0 | 11,57 | 297,8 | 12,44 | 176,4 | 11,82 | 171,1 | 11,90 | 220,3 | 41,36 | 38,75 | 39,78 | 40,75 | 37,15 | 35,60 | 18 |
| 18. VII.*) | 12,26 | 230,0 | 12,85 | 196,0 | 11,58 | 293,8 | 12,23 | 156,4 | 12,32 | 170,4 | 11,56 | 216,2 | 40,74 | 38,62 | 40,48 | 40,25 | 35,60 | 35,01 | 15 |
| 19. VII. | 12,52 | 227,5 | 12,90 | 209,4 | 11,95 | 287,8 | 12,71 | 157,0 | 12,36 | 169,0 | 11,58 | 222,7 | 41,29 | 38,26 | 40,13 | 38,26 | 35,72 | 35,30 | 16 |
| 20. VII. | 12,83 | 218,0 | 13,08 | 206,3 | 11,61 | 266,1 | 13,26 | 166,1 | 12,88 | 162,0 | 12,00 | 251,6 | 41,40 | 36,91 | 39,79 | 37,27 | 35,94 | 35,27 | 16 |
| 21. VII. | 12,44 | 220,0 | 13,11 | 216,0 | 11,90 | 282,5 | 12,45 | 166,5 | 12,87 | 161,8 | 11,76 | 228,3 | 40,41 | 37,28 | 39,65 | 38,41 | 36,46 | 35,22 | 16½ |
| 22. VII. | 11,95 | 196,9 | 13,08 | 214,1 | 12,02 | 280,0 | 12,82 | 164,5 | 12,65 | 158,8 | 11,75 | 227,0 | 41,16 | 36,22 | 39,11 | 38,30 | 36,23 | 35,10 | 17½ |
| Mittel des 3. Abschnitts. | | ***227,0*** | | ***211,5*** | | ***289,9*** | | ***167,4*** | | ***167,3*** | | ***229,0*** | | | | | | | |
| Mittel der Periode I . . | ***11,90*** | ***238,0*** | ***12,89*** | ***218,0*** | ***11,59*** | ***277,3*** | ***12,26*** | ***167,8*** | ***12,15*** | ***172,8*** | ***11,75*** | ***233,4*** | ***41,59*** | ***37,74*** | ***39,40*** | ***39,51*** | ***36,76*** | ***35,62*** | 18,8 |

*) Wechsel im Melkpersonal.

Zusammensetzung der täglichen Sammelmilch.

Periode I.

| | Menge | Mineral-stoffe | Gesamt-stickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1 . | 1992 | 0,789 | 0,472 | 9,40 | 2,95 | 58,75 | 3,33 | 67,33 | 4,85 | 96,61 |
| Ziege 2 . | 1683 | 0,793 | 0,483 | 8,12 | 3,01 | 50,81 | 3,93 | 66,04 | 5,16 | 86,84 |
| Ziege 3 . | 2503 | 0,814 | 0,509 | 12,74 | 3,18 | 79,62 | 2,56 | 63,88 | 4,44 | 111,15 |
| Ziege 4 . | 1314 | 0,830 | 0,504 | 6,75 | 3,21 | 42,18 | 3,61 | 49,84 | 4,61 | 60,58 |
| Ziege 5 . | 1425 | 0,871 | 0,486 | 6,93 | 3,03 | 43,31 | 3,63 | 51,52 | 4,62 | 65,84 |
| Ziege 6 . | 1951 | 0,828 | 0,469 | 9,15 | 2,93 | 57,18 | 3,61 | 69,72 | 4,86 | 94,82 |

2. *Fett.* Ziege 6 lieferte die größte Fettmenge, während die fettreichste Milch von Ziege 2 erzeugt wurde.

Die zutage getretenen, zum Teil erheblichen täglichen Schwankungen im Gehalt an Trockensubstanz und Fett unter sonst gleichen Verhältnissen sind eine natürliche Erscheinung und wurden nicht nur an einzelnen Tieren [*C. v. Borries*[1]), *W. Fleischmann*[2])], sondern auch an ganzen Herden beobachtet[3]). Die Stalltemperatur war keinen größeren nachteilig wirkenden Schwankungen ausgesetzt.

*Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Mit dem Aufsammeln von Kot und Harn wurde ebenso wie bei der Milch ohne Vorperiode bei den Tieren 1, 2, 3 am 28. Juni, bei Ziege 6 wegen der Eutererkrankung am 7. Juli begonnen.

Über die Menge des täglich ausgeschiedenen Kotes, Harns und Harnstickstoffs gibt die Tabelle IV Auskunft.

Die Kottrockensubstanz in Prozenten des Frischkotes betrug bei Ziege 1: 38,35 Proz., bei Ziege 2: 39,77 Proz., bei Ziege 3: 40,42 Proz., bei Ziege 6: 39,11 Proz. In dem lufttrockenen Kot waren enthalten:

Periode I.

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz . | 92,85 | 684,90 | 93,98 | 618,50 | 93,80 | 732,40 | 97,35 | 636,20 |
| Asche . . . . . . | 11,81 | 80,88 | 12,90 | 79,78 | 12,21 | 89,43 | 12,11 | 77,04 |
| Organ. Substanz . | 81,04 | 555,04 | 81,08 | 501,48 | 81,59 | 597,60 | 85,24 | 542,29 |
| Gesamt-N . . . . | 1,57 | 10,75 | 1,73 | 10,70 | 1,87 | 13,69 | 1,71 | 10,88 |
| Rohprotein . . . | 9,81 | 67,18 | 10,84 | 67,04 | 11,66 | 85,39 | 10,68 | 67,94 |
| Reineiweiß . . . | 9,44 | 64,65 | 10,37 | 64,14 | 10,81 | 79,17 | 10,00 | 65,32 |
| Amide . . . . . | 0,37 | 2,53 | 0,47 | 2,91 | 0,85 | 6,22 | 0,68 | 2,62 |
| Rohfett . . . . . | 3,29 | 22,53 | 3,10 | 19,17 | 3,21 | 23,51 | 3,33 | 21,18 |
| Rohfaser . . . . | 23,10 | 158,21 | 23,41 | 144,79 | 25,24 | 184,93 | 26,48 | 168,40 |
| N-freie Extraktstoffe . . . . . | 44,88 | 307,38 | 43,73 | 270,47 | 41,47 | 303,73 | 44,75 | 284,69 |
| Pepsinunlösl. N . | 1,01 | 6,91 | 0,98 | 6,05 | 1,16 | 8,52 | 1,05 | 6,67 |
| Rohprotein, pepsinunlöslich | 6,31 | 43,18 | 6,12 | 37,81 | 7,25 | 53,25 | 6,56 | 41,68 |

[1]) Milchzeitung **9**, 285, 1880. — [2]) Landw. Jahrb. **20**, Ergänzungsband II, 1891. — [3]) Ber. d. milchwirtsch. Vers.-Station Raden **13**, 1885.

*Tab. IV.* Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn u. Gesamtharnstickstoff

Periode I.

| Tag | Kot, frisch g | Kot, trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | Kot, frisch g | Kot, trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | |
| 28. VI. | 1889 | 901,4 | 6720 | 20,01 | 1581 | 852,6 | verschüttet | |
| 29. VI. | 2021 | 1019,5 | 8630 | 21,58 | 1504 | 753,6 | 86,20 | 24,93 |
| 30. VI. | 1852 | 659,3 | 4886 | 20,08 | 1353 | 566,2 | 2950 | 22,32 |
| 1. VII. | 2000 | 1157,2 | 10800 | 23,44 | 1623 | 810,3 | 3860 | 20,08 |
| 2. VII. | 1848 | 654,7 | 10300 | 18,48 | 1533 | 604,2 | 4830 | 18,28 |
| 3. VII. | 2293 | 865,1 | 5720 | 18,25 | 1758 | 669,8 | 4770 | 19,58 |
| 4. VII. | 1792 | 710,5 | 5235 | 18,32 | 1642 | 745,8 | 6650 | 21,66 |
| 5. VII. | 1753 | 602,3 | 6484 | 21,35 | 1661 | 632,6 | 7820 | 23,08 |
| 6. VII. | 2003 | 701,5 | 5910 | 18,59 | 1951 | 746,8 | 7900 | 20,39 |
| 7. VII. | 1698 | 718,5 | 6830 | 21,74 | 1923 | 643,8 | 5770 | 25,43 |
| 8. VII. | 1734 | 624,4 | 5722 | 18,53 | 1728 | 619,5 | 5620 | 23,44 |
| 9. VII. | 1730 | 680,3 | 4828 | 21,11 | 1689 | 462,5 | 3740 | 20,69 |
| 10. VII. | 1828 | 679,6 | 5630 | 18,82 | 1556 | 520,3 | 6630 | 22,55 |
| 11. VII. | 1956 | 785,9 | 7500 | 21,03 | 1691 | 627,4 | 7840 | 21,04 |
| 12. VII. | 1772 | 780,8 | 4800 | 19,01 | 1587 | 598,3 | 4780 | 20,85 |
| 13. VII. | 1985 | 720,8 | 7896 | 21,56 | 1761 | 656,4 | 6730 | 22,62 |
| 14. VII. | 1830 | 731,8 | 4625 | 18,21 | 1714 | 690,1 | 5820 | 20,17 |
| 15. VII. | 2426 | 847,0 | 7925 | 21,02 | 1736 | 653,7 | 6950 | 20,06 |
| 16. VII. | 1925 | 710,0 | 7000 | 17,98 | 1511 | 602,7 | 4720 | 22,75 |
| 17. VII. | 1961 | 749,6 | 6713 | 20,90 | 1706 | 648,7 | 4520 | 20,56 |
| 18. VII. | 2001 | 710,7 | 4925 | 18,17 | 1612 | 632,0 | 4750 | 22,50 |
| 19. VII. | 1628 | 486,8 | 5624 | 18,24 | 1829 | 693,7 | 4825 | 20,87 |
| 20. VII. | 1647 | 662,3 | 5525 | 20,28 | 1646 | 604,9 | 5750 | 20,38 |
| 21. VII. | 1596 | 621,5 | 5905 | 18,44 | 1511 | 776,7 | 4810 | 21,39 |
| 22. VII. | 1617 | 662,0 | 6660 | 17,07 | 1555 | 638,7 | 4750 | 23,23 |
| Mittel: | 1872 | 737,6 | 6512 | 19,64 | 1655 | 658,2 | 5517 | 21,62 |
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | |
| 28. VI. | 1643 | 881,6 | 7760 | 17,24 | — | — | — | — |
| 29. VI. | 2201 | 890,3 | 5850 | 18,73 | — | — | — | — |
| 30. VI. | 1988 | 779,0 | 4850 | 16,82 | — | — | — | — |
| 1. VII. | 1863 | 850,2 | 5760 | 18,20 | — | — | — | — |
| 2. VII. | 1770 | 817,1 | 4920 | 17,37 | — | — | — | — |
| 3. VII. | 1735 | 716,0 | 3810 | 10,11 | — | — | — | — |
| 4. VII. | 1828 | 710,1 | 5980 | 18,04 | — | — | — | — |
| 5. VII. | 1872 | 738,5 | 3740 | 18,43 | — | — | — | — |
| 6. VII. | 2131 | 829,4 | 5630 | 20,69 | — | — | — | — |
| 7. VII. | 2213 | 834,8 | 4810 | 19,54 | 1782 | 631,8 | 1925 | 19,46 |
| 8. VII. | 2018 | 780,3 | 7860 | 19,71 | 1943 | 795,8 | 2000 | 22,73 |
| 9. VII. | 2103 | 842,4 | 3740 | 21,55 | 1767 | 599,3 | 1710 | 19,64 |
| 10. VII. | 2125 | 860,6 | 6580 | 20,90 | 1767 | 603,2 | 1988 | 22,97 |
| 11. VII. | 2266 | 858,8 | 6800 | 20,92 | 1695 | 678,7 | 2865 | 22,14 |
| 12. VII. | 1985 | 737,9 | 4590 | 20,01 | 1629 | 692,5 | 1900 | 19,91 |
| 13. VII. | 1872 | 756,5 | 5680 | 19,96 | 1511 | 617,4 | 2410 | 20,40 |
| 14. VII. | 1952 | 785,0 | 7730 | 20,08 | 1599 | 646,8 | 2790 | 22,01 |
| 15. VII. | 1758 | 694,5 | 6880 | 17,17 | 1527 | 697,9 | 2215 | 19,77 |
| 16. VII. | 1805 | 740,5 | 7840 | 20,93 | 1547 | 630,2 | 1900 | 17,26 |
| 17. VII. | 1960 | 794,1 | 3860 | 17,45 | 1663 | 619,4 | 1000 | 18,23 |
| 18. VII. | 1930 | 726,9 | 4820 | 16,63 | 1667 | 661,2 | 1834 | 18,54 |
| 19. VII. | 1955 | 731,3 | 3490 | 20,01 | 1682 | 637,3 | 1710 | 19,47 |
| 20. VII. | 1875 | 750,1 | 4730 | 17,28 | 1620 | 635,8 | 2729 | 23,34 |
| 21. VII. | 1713 | 716,2 | 4850 | 19,43 | 1601 | 628,7 | 3620 | 20,35 |
| 22. VII. | 1728 | 700,1 | 4800 | 19,30 | 1731 | 673,9 | 2919 | 20,35 |
| Mittel: | 1932 | 780,8 | 5496 | 18,66 | 1670 | 653,2 | 2158 | 20,41 |

*Tabelle V.*

Verwertung der Nährstoffe in Periode I.

| | Gesamt-N | Aus Gesamt-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach *Stutzer* | Amide | Roh-fett | Roh-faser | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein | Eiweiß | Roh-protein | Eiweiß | | | | | |
| | g | g | g | g | g | | g | g | g | g |
| **Ziege 1** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | — | 21,18 | 57,31 | 377,60 | 870,67 |
| ab Rest . . | 0,08 | 0,54 | 0,44 | 0,54 | 0,44 | — | 0,03 | 0,10 | 1,10 | 1,84 |
| | 42,22 | 263,83 | 242,72 | 263,83 | 242,72 | — | 21,15 | 57,21 | 376,50 | 868,83 |
| im Kot . . | 10,75 | 67,18 | 64,55 | 42,25 | 42,25 | — | 2,53 | 22,53 | 158,21 | 307,38 |
| Verdaut . . | 31,47 | 195,65 | 178,07 | 221,58 | 200,47 | 196,50 | 18,62 | 34,68 | 218,29 | 561,45 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,5 | 74,5 | 73,4 | 84,0 | 82,6 | 74,5 | 88,0 | 60,6 | 57,9 | 63,9 |
| **Ziege 2** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 44,79 | 279,57 | 256,96 | 279,57 | 256,96 | — | 22,45 | 67,21 | 341,10 | 790,15 |
| ab Rest . . | 0,46 | 2,88 | 2,30 | 2,88 | 2,30 | — | 0,20 | 0,64 | 6,40 | 11,11 |
| | 44,33 | 276,69 | 254,66 | 276,69 | 254,66 | — | 22,25 | 66,57 | 334,70 | 779,04 |
| im Kot . . | 10,70 | 67,04 | 64,14 | 47,68 | 47,68 | — | 2,91 | 19,17 | 144,79 | 270,47 |
| Verdaut . . | 33,63 | 209,65 | 190,52 | 229,01 | 206,98 | 211,92 | 19,34 | 47,40 | 189,91 | 508,57 |
| Verdauungs-koeffizient . | 75,9 | 75,9 | 74,8 | 82,7 | 81,3 | 76,6 | 86,9 | 71,2 | 56,7 | 65,2 |
| **Ziege 3** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 48,33 | 301,57 | 277,36 | 301,57 | 277,36 | — | 24,05 | 72,19 | 391,28 | 924,58 |
| ab Rest . . | 0,29 | 1,81 | 1,46 | 1,81 | 1,46 | — | 0,13 | 0,41 | 4,12 | 7,09 |
| | 48,04 | 299,76 | 275,90 | 299,76 | 275,90 | — | 23,92 | 71,78 | 387,16 | 917,49 |
| im Kot . . | 13,69 | 85,39 | 79,17 | 49,25 | 49,25 | — | 6,22 | 23,51 | 184,93 | 303,73 |
| Verdaut . . | 34,35 | 214,37 | 196,73 | 250,51 | 226,65 | 226,4 | 18,70 | 48,27 | 202,23 | 613,76 |
| Verdauungs-koeffizient . | 71,5 | 71,5 | 71,3 | 83,5 | 82,1 | 75,9 | 78,1 | 67,2 | 52,2 | 66,4 |
| **Ziege 6** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | — | 21,18 | 57,31 | 377,60 | 870,67 |
| ab Rest . . | 0,11 | 0,74 | 0,68 | 0,74 | 0,68 | — | 0,05 | 0,17 | 1,70 | 2,85 |
| | 42,19 | 263,63 | 242,48 | 263,63 | 242,48 | — | 21,13 | 57,14 | 375,90 | 867,82 |
| im Kot . . | 10,88 | 67,94 | 65,32 | 41,56 | 41,56 | — | 2,62 | 21,18 | 168,40 | 284,69 |
| Verdaut . . | 31,31 | 195,69 | 177,16 | 222,07 | 200,92 | 196,32 | 18,51 | 35,96 | 207,50 | 583,13 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,2 | 74,2 | 73,0 | 84,2 | 82,8 | 74,4 | 87,6 | 62,9 | 55,2 | 67,2 |

Die Verwertung des Grundfutters berechnet sich demnach in folgender Weise (s. Tabelle V): Die in jeder Periode gesammelten Heureste wurden von jeder Ration in Abzug gebracht.

Die Ausnutzung der Nährstoffe ist im allgemeinen eine gut übereinstimmende. Die geringen Unterschiede in der Eiweißverarbeitung, namentlich bei Ziege 3, werden nahezu ausgeglichen, wenn man die Stoffwechselprodukte durch Bestimmung des in Pepsinsalzsäure unlöslichen Stickstoffs des Kotes nach dem Beispiel *Morgens*[1]) ausschaltet. Ziege 3 nützt die

---

[1]) L. V. St. **77**, 51, 1912.

Rohfaser im geringeren Maße aus, dies muß auf einer besonderen Eigenschaft beruhen und kann nicht auf ein zu weites Eiweißverhältnis zurückgeführt werden (Eiweißverhältnis 1 : 4,4).

Die Berechnung des Gehaltes der Ration an verdaulichem Stärkewert, bezogen auf 1000 kg Lebendgewicht, findet sich in folgender Zusammenstellung:

Gehalt der Rationen an verdaulichen Nährstoffen und Stärkewert je 1000 kg Lebendgewicht, Periode I.

| | Gewicht kg | Fett kg | Roh-faser kg | N-freie Extrakt-stoffe kg | Roh-protein kg | Rein-eiweiß kg | Amide kg | Stärke-wert kg | Eiweiß-verhältnis aus Gesamt-N | Milch-ertrag je 1000 kg kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 . | 41,59 | 0,83 | 5,24 | 13,50 | 4,70 | 4,28 | 0,42 | 19,85 | 1 : 4,80 | 47,9 |
| „ 2 . | 37,74 | 1,25 | 5,03 | 13,41 | 5,55 | 5,04 | 0,51 | 21,48 | 1 : 4,11 | 44,6 |
| „ 3 . | 39,40 | 1,22 | 5,12 | 14,32 | 5,44 | 4,99 | 0,45 | 21,60 | 1 : 4,43 | 63,53 |
| „ 6 . | 35,62 | 1,01 | 5,82 | 16,45 | 5,49 | 4,97 | 0,52 | 23,68 | 1 : 4,91 | 54,87 |
| | | | | | | | | | Mittel: | 52,5 |

Auf 1 kg Milchtrockensubstanz kommen einschließlich des Erhaltungsfutters bei

Ziege 1 . . . . . . 3,46 kg Stärkewert
„ 2 . . . . . . 3,71 „ „
„ 3 . . . . . . 3,06 „ „
„ 6 . . . . . . 3,61 „ „

Bis auf Ziege 3 sind die Stärkewerte der Milchleistung gleichmäßig angepaßt. Da, wie auf S. 284 ausgeführt, 1 kg Milchtrockensubstanz im Durchschnitt 2,69 kg Stärkewert erfordert, so hätte Ziege 3 im Vergleich zu den anderen Tieren 0,5 kg an Stärkewert auf 1000 kg Lebendgewicht zu wenig erhalten; trotzdem war das Tier imstande, die Produktion während der ganzen Periode auf einer beachtenswerten Höhe zu halten und noch über das Anfangsstadium hinauszusteigern.

Für die Aufstellung der Stickstoffbilanzen sind mit Hilfe der vorhergehenden Tabellen die erforderlichen Unterlagen geschaffen. Die täglichen Ein- und Ausgaben an Stickstoff waren folgende:

Stickstoffbilanzen der Periode I.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter . . . . . . . | 42,22 | 44,33 | 48,04 | 42,19 |
| N im Kot . . . . . . . . | 10,75 | 10,70 | 13,69 | 10,88 |
| Verdaut . . . . . . . . . | 31,47 | 33,63 | 34,35 | 31,31 |
| Davon im Harn . . . . . | 19,64 | 21,62 | 18,66 | 20,41 |
| in der Milch . . . . . . | 9,40 | 8,13 | 12,74 | 9,15 |
| Summe . . . . . . . . . . | 22,04 | 29,75 | 31,40 | 29,56 |
| Ansatz . . . . . . . . . . | 2,43 | 3,88 | 2,95 | 1,75 |
| Gewichtszunahme je Tag . | 22 g | 30 g | 71 g | 25 g |

Es fand also bei allen Tieren ein Gewinn am Körper statt, der 1,75 bis 3,8 g Stickstoff betrug; in der Tat hatten alle Tiere, mit Ausnahme

von Ziege 4, bei der keine Stoffwechselprodukte aufgefangen wurden, eine Körpergewichtszunahme zu verzeichnen, die auf Fleisch- bzw. Fettansatz entfallen kann. Darüber, ob beim ausgewachsenen Tier der über den Bedarf gefütterte Stickstoff in Form von Fleisch zum Ansatz gelangt, sind die Ansichten geteilt. Während die älteren Forscher[1]) fanden, daß bei der Fütterung ausgewachsener, in mittlerem Ernährungszustand befindlicher Tiere kein nennenswerter Fleischansatz erfolgt, sondern es sich hauptsächlich um eine Neubildung von Fett handelt, vermochten *Friske*[2]) und *Pfeiffer* und *Friske*[3]) an Hammeln unter allen Umständen einen deutlichen Ansatz von Fleischsubstanz festzustellen. Ob diese Befunde, die an kastrierten Tieren vorgenommen waren, auf Ziegen zu übertragen sind, kann nicht ohne weiteres entschieden werden, denn nach Ansicht *Abderhaldens*[4]) kann eine positive Stickstoffbilanz im Sinne eines Eiweißansatzes nur durch gleichzeitige Verfolgung der Schwefelbilanz gedeutet werden. Angenommen, der Ansatz bei den Tieren sei in Form von Fleisch erfolgt. Nach den Untersuchungen *Köhlers*[5]) enthält die fett- und aschefreie Fleischtrockensubstanz 16,67 Proz. Stickstoff; auf frisches Fleisch mit 77 Proz. Wasser umgerechnet, ergibt sich bei den einzelnen Tieren ein Ansatz von: Ziege 1: 63,40 g, Ziege 2: 101,0 g, Ziege 3 76,9 g, Ziege 6: 45,6 g. Der aus der Körpergewichtsvermehrung für den Tag berechnete Fleischansatz betrug bei Ziege 1: 22,0 g, Ziege 2: 29,6 g, Ziege 3: 71,2 g, Ziege 6: 25,0 g.

Die positiven Stickstoffbilanzen würden somit eine wenn auch nicht genaue Erklärung in dem Körperansatz finden und eine Bestätigung dafür erbringen, daß die Stickstoffretentionen durch Harnverluste bei der Versuchsanstellung mit den Kästenställen nicht vorgetäuscht waren. Der Ersatz für die verloren gegangenen Substanzmengen an Haaren und Klauen ist dabei nicht berücksichtigt worden.

### Periode II: Kleine Harnstoffersatzperiode.

Die Fütterung mit Harnstoff dauerte 21 Tage. Der Ersatz durch eine mittlere Gabe Harnstoff hat in der Weise stattgefunden, daß 7,28 g des nach *Stutzer* ermittelten verdaulichen Gesamtstickstoffs durch 16 g Harnstoff = 7,4 g Stickstoff ersetzt wurden, wobei ich von der Voraussetzung der vollständigen Verdaulichkeit des Harnstoffs ausging. Um den Stärkewert auf gleicher Höhe zu halten, wurden 100 g Zucker zugelegt. Die angegebenen 7,28 g verdaulichen Stickstoffs setzen sich aus folgenden Futtermitteln zusammen:

| | | |
|---|---|---|
| 100 g Hefe[6]) . . . . . | = 6,42 g | verdaulicher Gesamtstickstoff |
| 50 g Weizenschalen . | = 0,86 g | „ „ |
| zusammen . . | = 7,28 g | verdaulicher Gesamtstickstoff |

[1]) *Kellner*, Ernährung d. landw. Nutztiere, 8. Aufl., S. 455, 1919.
[2]) L. V. St. **71**, 441, 1909.
[3]) Ebendaselbst **74**, 409, 1911.
[4]) Lehrbuch der physiol. Chem., 2. Teil, S. 514, 1921.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 499, 1901.
[6]) Ich wählte in allen Fällen abgerundete Zahlen, um die Arbeit des Abwiegens zu erleichtern und Versehen vorzubeugen.



Der Harnstoffsstickstoff wurde auf Rohprotein bezogen. Die Tiere erhielten demgemäß folgende Rationen (s. Tabelle VI).

*Tabelle VI.*

Zusammensetzung der Ration der Periode II (Harnstoff).

| | Trockensubstanz | Organische Substanz | Gesamt-N | Rohprotein | Verdauliches Rohprotein | Reineiweiß | Amidsubstanz | Rohfett | Rohfaser | N-freie Extraktstoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **Ziege 1 und 6** | | | | | | |
| Heu . . . 1200 g | 1064,40 | 971,76 | 21,19 | 132,00 | 83,28 | 122,40 | 9,60 | 29,88 | 301,08 | 508,80 |
| Leinmehl . 150 g | 135,90 | 119,70 | 5,95 | 37,20 | 31,71 | 34,20 | 2,97 | 14,88 | 13,68 | 53,91 |
| Weizensch. 150 g | 133,35 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,76 | 71,79 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 150 g | 149,31 | 148,89 | — | — | — | — | — | — | — | 148,89 |
| Harnstoff . 16 g | 15,93 | 15,93 | 7,40 | 46,25 | 46,25 | — | 46,25 | — | — | — |
| | 1683,89 | 1559,18 | 41,02 | 255,90 | 197,50 | 196,96 | 58,91 | 54,65 | 367,02 | 913,41 |
| | | | | **Ziege 2** | | | | | | |
| Heu . . . 1000 g | 887,00 | 809,80 | 17,65 | 110,00 | 69,40 | 102,00 | 8,00 | 24,90 | 250,90 | 424,00 |
| Leinmehl . 300 g | 271,80 | 239,40 | 11,91 | 74,40 | 62,42 | 68,40 | 5,84 | 29,76 | 27,36 | 107,82 |
| Weizensch. 150 g | 133,90 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,76 | 71,79 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 150 g | 149,31 | 148,89 | — | — | — | — | — | — | — | 148,89 |
| Harnstoff . 16 g | 15,93 | 15,93 | 7,40 | 46,25 | 46,25 | — | 46,25 | — | — | — |
| | 1642,94 | 1516,92 | 43,44 | 271,10 | 214,33 | 210,76 | 60,09 | 64,55 | 330,52 | 882,52 |
| | | | | **Ziege 3** | | | | | | |
| Heu . . . 1200 g | 1064,40 | 971,76 | 21,19 | 132,00 | 83,28 | 122,40 | 9,60 | 29,88 | 301,08 | 508,80 |
| Leinmehl . 300 g | 271,80 | 239,40 | 11,91 | 74,40 | 62,42 | 68,40 | 5,84 | 29,76 | 27,36 | 107,82 |
| Weizensch. 150 g | 133,90 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,76 | 71,79 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 150 g | 149,31 | 148,89 | — | — | — | — | — | — | — | 148,89 |
| Harnstoff . 16 g | 15,93 | 15,93 | 7,40 | 46,25 | 46,25 | — | 46,25 | — | — | — |
| | 1720,34 | 1678,88 | 46,98 | 293,10 | 228,21 | 231,16 | 61,78 | 69,53 | 380,70 | 967,32 |
| | | | | **Ziege 4 und 5** | | | | | | |
| Heu . . . 800 g | 709,60 | 647,84 | 14,16 | 88,00 | 55,50 | 81,60 | 6,40 | 19,92 | 200,72 | 329,20 |
| Leinmehl . 150 g | 135,90 | 119,70 | 5,95 | 37,20 | 31,71 | 34,20 | 2,97 | 14,88 | 13,68 | 53,91 |
| Weizensch. 150 g | 133,35 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,76 | 71,79 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 150 g | 149,31 | 148,89 | — | — | — | — | — | — | — | 148,89 |
| Harnstoff . 16 g | 15,93 | 15,93 | 7,40 | 46,25 | 46,25 | — | 46,25 | — | — | — |
| | 1329,09 | 1235,26 | 33,99 | 211,90 | 169,72 | 156,16 | 55,71 | 44,69 | 266,66 | 733,81 |

Der Harnstoff wurde in Wasser gelöst auf das Heu gegossen, so daß eine gleichmäßige Aufnahme gesichert schien.

Die Erträge an Milch und Milchbestandteilen sind in der folgenden Tabelle VII, S. 295, aufgeführt.

*Wirkung auf Menge und Gehalt der Milch.*

1. *Milchmenge und Trockensubstanz.* Die Tiere antworteten auf die Harnstoff-Fütterung sofort mit einer Verminderung der Milchmenge, welche schon am ersten Tage deutlich bemerkbar war. Der Ertrag sank ständig

*Tabelle VII.*

**Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Harnstoffperiode II.**

| Tag | Milchmenge | | | | | | Fettgehalt | | | | | | | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | |
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| Mittel der Periode I . . | 1992 | 1683 | 2503 | 1314 | 1425 | 1951 | 3,33 | 67,33 | 3,93 | 66,04 | 2,56 | 63,88 | 3,61 | 49,84 | 3,63 | 51,52 | 3,55 | 69,72 | 18,8 |
| 23. VII. | 1677 | 1543 | 2268 | 1296 | 1279 | 2073 | 3,80 | 63,70 | 4,15 | 64,15 | 2,90 | 65,95 | 4,20 | 54,50 | 4,20 | 53,75 | 3,90 | 80,95 | 19 |
| 24. VII. | 1582 | 1540 | 2246 | 1228 | 1259 | 1980 | 3,55 | 56,36 | 3,75 | 57,90 | 2,95 | 63,50 | 4,05 | 49,75 | 3,90 | 49,15 | 3,55 | 70,40 | 19½ |
| 25. VII. | 1692 | 1483 | 2172 | 1270 | 1231 | 1700 | 3,75 | 63,50 | 3,75 | 55,60 | 3,20 | 69,51 | 3,95 | 50,02 | 3,75 | 46,35 | 3,15 | 53,50 | 18 |
| 26. VII. | 1522 | 1409 | 1942 | 1305 | 1214 | 2140 | 3,30 | 50,04 | 3,70 | 52,15 | 2,75 | 53,50 | 4,05 | 53,00 | 3,95 | 48,00 | 4,20 | 90,00 | 17½ |
| 27. VII. | 1547 | 1415 | 2103 | 1285 | 1296 | 1687 | 3,65 | 56,50 | 3,65 | 51,70 | 3,15 | 66,50 | 4,10 | 42,75 | 4,00 | 51,85 | 3,45 | 58,30 | 16½ |
| 28. VII. | 1499 | 1603 | 2091 | 1165 | 1142 | 1828 | 3,95 | 59,10 | 3,95 | 63,50 | 2,85 | 59,60 | 4,10 | 47,80 | 3,80 | 43,50 | 3,40 | 62,10 | 16½ |
| 29. VII. | 1561 | 1416 | 2020 | 1139 | 1197 | 1893 | 3,65 | 57,20 | 3,90 | 55,40 | 2,75 | 55,50 | 4,05 | 46,02 | 4,10 | 49,05 | 3,75 | 71,00 | 15½ |
| Mittel des 1. Abschnitts. | 1583 | 1509 | 2118 | 1241 | 1231 | 1900 | | 58,06 | | 57,20 | | 62,01 | | 49,10 | | 48,81 | | 69,46 | |
| 30. VII. | 1531 | 1431 | 2033 | 1175 | 1221 | 1873 | 3,70 | 56,65 | 3,80 | 54,40 | 3,00 | 61,00 | 4,25 | 50,00 | 3,95 | 48,33 | 3,50 | 65,61 | 16½ |
| 31. VII. | 1444 | 1536 | 1957 | 1117 | 1159 | 1828 | 3,70 | 53,50 | 4,15 | 63,75 | 2,90 | 56,75 | 4,20 | 46,95 | 3,80 | 44,00 | 3,35 | 61,10 | 18 |
| 1. VIII. | 1482 | 1433 | 1965 | 1141 | 1117 | 1872 | 3,80 | 56,50 | 4,00 | 57,32 | 2,85 | 56,00 | 4,05 | 46,25 | 3,95 | 44,10 | 3,55 | 66,55 | 20 |
| 2. VIII. | 1451 | 1455 | 2113 | 1219 | 1136 | 1791 | 3,40 | 49,50 | 4,00 | 58,20 | 2,80 | 59,05 | 4,20 | 51,20 | 4,10 | 46,55 | 3,80 | 68,10 | 20 |
| 3. VIII. | 1409 | 1628 | 1982 | 1165 | 1171 | 1787 | 3,45 | 48,55 | 3,90 | 63,50 | 2,70 | 53,50 | 4,30 | 50,05 | 3,90 | 45,70 | 3,55 | 63,50 | 19 |
| 4. VIII. | 1469 | 1424 | 2040 | 1146 | 1218 | 1809 | 3,60 | 52,88 | 3,95 | 56,46 | 2,80 | 57,05 | 4,55 | 52,10 | 4,00 | 48,72 | 3,60 | 65,05 | 19½ |
| 5. VIII. | 1392 | 1511 | 2044 | 1169 | 1206 | 1866 | 3,30 | 46,00 | 3,95 | 59,75 | 2,60 | 54,50 | 4,15 | 48,50 | 3,95 | 47,70 | 3,45 | 64,45 | 18½ |
| Mittel des 2. Abschnitts. | 1455 | 1488 | 2019 | 1162 | 1196 | 1832 | | 52,94 | | 59,09 | | 56,84 | | 49,29 | | 46,49 | | 64,91 | |
| 6. VIII. | 1377 | 1395 | 2055 | 1073 | 1150 | 1865 | 3,80 | 52,40 | 4,10 | 57,10 | 2,85 | 58,50 | 4,25 | 50,00 | 3,95 | 45,45 | 3,85 | 71,92 | 18 |
| 7. VIII. | 1440 | 1403 | 2122 | 1121 | 1179 | 1995 | 3,90 | 56,25 | 4,20 | 59,10 | 2,75 | 58,50 | 4,25 | 47,70 | 3,85 | 45,45 | 3,90 | 77,75 | 18 |
| 8. VIII. | 1343 | 1423 | 2097 | 1099 | 1124 | 1832 | 3,20 | 43,00 | 4,10 | 58,50 | 2,85 | 59,75 | 4,10 | 45,00 | 4,00 | 45,00 | 3,30 | 60,50 | 19 |
| 9. VIII. | 1349 | 1413 | 2120 | 1154 | 1082 | 1890 | 3,50 | 47,20 | 4,30 | 60,96 | 3,00 | 63,60 | 4,15 | 48,00 | 4,15 | 45,94 | 3,75 | 70,95 | 20 |
| 10. VIII. | 1305 | 1423 | 2044 | 1190 | 1053 | 1769 | 3,45 | 45,10 | 4,40 | 62,75 | 2,95 | 60,45 | 4,20 | 50,00 | 4,05 | 42,70 | 3,10 | 54,90 | 19 |
| 11. VIII. | 1343 | 1438 | 1804 | 1134 | 1079 | 1869 | 3,55 | 47,70 | 4,05 | 58,25 | 3,35 | 60,50 | 4,45 | 50,00 | 4,00 | 43,15 | 3,90 | 72,80 | 19 |
| 12. VIII. | 1343 | 1408 | 1389 | 1201 | 1062 | 1726 | 3,60 | 48,50 | 3,70 | 52,15 | 3,60 | 50,00 | 4,20 | 50,50 | 4,20 | 44,73 | 3,70 | 63,85 | 18½ |
| Mittel des 3. Abschnitts. | 1359 | 1415 | 1952 | 1139 | 1104 | 1879 | | 48,59 | | 58,90 | | 58,76 | | 48,74 | | 44,63 | | 67,52 | |
| Mittel der Periode II . . | 1465 | 1463 | 2029 | 1181 | 1170 | 1860 | 3,60 | 52,86 | 3,97 | 58,24 | 2,93 | 59,19 | 4,18 | 49,02 | 3,97 | 46,63 | 3,60 | 67,28 | 18,4 |

*Tabelle VII* (Fortsetzung).

Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Harnstoffperiode II.

| Tag | Trockensubstanz | | | | | | | | | | | | Körpergewicht | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | | | | | | | Ziege | | | | | | |
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | kg | kg | kg | kg | kg | kg | Grad |
| Mittel der Periode I . . | *11,90* | *238,0* | *12,89* | *218,1* | *11,59* | *277,3* | *12,26* | *167,8* | *12,15* | *172,8* | *11,75* | *233,4* | *41,59* | *37,74* | *39,40* | *39,51* | *36,76* | *35,62* | *18,8* |
| 23. VII. | 11,84 | 198,5 | 13,09 | 202,0 | 11,93 | 271,0 | 12,92 | 167,5 | 12,87 | 164,4 | 12,31 | 255,5 | 40,70 | 37,00 | 39,25 | 37,86 | 36,42 | 35,71 | 19 |
| 24. VII. | 13,17 | 208,3 | 13,01 | 200,9 | 11,81 | 256,6 | 12,58 | 154,2 | 11,92 | 150,0 | 12,43 | 246,1 | 40,06 | 36,67 | 38,59 | 37,85 | 35,94 | 34,57 | 19½ |
| 25. VII. | 12,41 | 211,5 | 12,66 | 187,9 | 12,11 | 263,6 | 12,32 | 156,7 | 12,11 | 149,8 | 11,69 | 198,5 | 40,00 | 38,61 | 39,58 | 39,47 | 36,33 | 34,43 | 18 |
| 26. VII. | 12,14 | 185,0 | 12,87 | 181,1 | 11,49 | 223,5 | 12,70 | 166,1 | 12,37 | 150,5 | 12,84 | 285,0 | 39,82 | 37,24 | 39,46 | 39,15 | 36,60 | 34,96 | 17½ |
| 27. VII. | 12,58 | 194,7 | 13,07 | 185,0 | 12,42 | 262,4 | 13,15 | 169,0 | 12,79 | 162,2 | 15,59 | 212,0 | 40,17 | 38,41 | 39,55 | 39,63 | 37,49 | 34,20 | 16½ |
| 28. VII. | 12,60 | 188,5 | 12,94 | 208,0 | 13,02 | 252,0 | 12,66 | 147,5 | 12,51 | 143,1 | 11,78 | 214,5 | 40,00 | 37,17 | 37,81 | 38,68 | 37,54 | 34,00 | 16½ |
| 29. VII. | 12,46 | 195,0 | 12,95 | 183,2 | 11,97 | 241,8 | 12,83 | 146,0 | 12,90 | 154,2 | 12,40 | 235,0 | 41,00 | 37,80 | 37,28 | 37,60 | 36,58 | 34,52 | 15½ |
| Mittel des 1. Abschnitts . | | *199,3* | | *192,6* | | *252,9* | | *158,1* | | *153,5* | | *235,2* | | | | | | | |
| 30. VII. | 13,04 | 200,0 | 12,88 | 184,5 | 11,95 | 243,0 | 13,11 | 154,2 | 12,66 | 144,8 | 12,06 | 226,0 | 40,13 | 37,30 | 39,19 | 38,11 | 36,39 | 34,20 | 16½ |
| 31. VII. | 12,72 | 184,0 | 13,29 | 204,0 | 12,16 | 238,0 | 12,60 | 140,8 | 12,56 | 145,5 | 11,80 | 215,5 | 40,48 | 37,57 | 39,05 | 38,64 | 35,62 | 34,89 | 18 |
| 1. VIII. | 12,48 | 185,0 | 12,90 | 185,1 | 11,91 | 234,0 | 12,66 | 144,5 | 12,57 | 140,5 | 12,14 | 228,0 | 41,27 | 38,20 | 39,16 | 37,87 | 35,21 | 34,62 | 20 |
| 2. VIII. | 12,11 | 176,0 | 12,89 | 187,5 | 11,73 | 247,6 | 12,69 | 154,2 | 12,50 | 142,0 | 12,31 | 220,8 | 41,08 | 38,00 | 39,16 | 37,63 | 36,22 | 34,50 | 20 |
| 3. VIII. | 12,25 | 172,6 | 12,89 | 209,6 | 11,57 | 228,5 | 12,45 | 145,0 | 12,60 | 147,6 | 12,27 | 219,0 | 39,72 | 37,90 | 38,48 | 38,27 | 36,07 | 34,83 | 19 |
| 4. VIII. | 12,25 | 179,6 | 13,20 | 188,1 | 11,82 | 241,3 | 12,22 | 140,0 | 12,45 | 151,0 | 12,24 | 221,7 | 40,33 | 38,00 | 38,43 | 38,27 | 36,61 | 35,20 | 19½ |
| 5. VIII. | 12,26 | 170,8 | 12,94 | 195,8 | 11,61 | 244,0 | 12,87 | 150,3 | 12,48 | 150,5 | 12,09 | 225,3 | 41,00 | 38,00 | 39,26 | 38,00 | 36,30 | 35,11 | 18½ |
| Mittel des 2. Abschnitts . | | *181,1* | | *193,5* | | *239,5* | | *149,0* | | *145,9* | | *222,2* | | | | | | | |
| 6. VIII. | 12,45 | 171,5 | 13,06 | 182,0 | 11,84 | 243,0 | 13,03 | 153,1 | 12,59 | 144,8 | 12,57 | 234,1 | 40,47 | 37,56 | 38,84 | 38,22 | 36,17 | 34,72 | 18 |
| 7. VIII. | 12,83 | 185,0 | 13,31 | 187,5 | 11,84 | 251,9 | 13,28 | 148,9 | 12,58 | 149,3 | 12,61 | 252,0 | 40,67 | 38,14 | 39,71 | 38,20 | 35,85 | 35,00 | 18 |
| 8. VIII. | 12,13 | 163,0 | 13,11 | 187,0 | 11,72 | 246,0 | 12,51 | 137,5 | 12,52 | 141,0 | 11,90 | 218,0 | 40,68 | 38,10 | 39,62 | 38,27 | 36,22 | 35,33 | 19 |
| 9. VIII. | 12,13 | 163,7 | 13,33 | 189,0 | 11,73 | 248,6 | 11,77 | 136,0 | 12,11 | 131,1 | 12,31 | 232,5 | 41,00 | 38,49 | 39,67 | 39,56 | 36,57 | 35,39 | 20 |
| 10. VIII. | 12,14 | 158,6 | 13,30 | 190,0 | 11,96 | 245,0 | 12,98 | 154,8 | 12,71 | 134,0 | 11,87 | 209,5 | 40,48 | 38,49 | 39,63 | 38,83 | 36,56 | 35,09 | 19 |
| 11. VIII. | 12,02 | 162,0 | 12,99 | 186,7 | 12,38 | 223,8 | 12,72 | 144,5 | 12,23 | 132,0 | 12,38 | 231,0 | 40,69 | 38,49 | 39,50 | 38,63 | 36,78 | 35,04 | 19 |
| 12. VIII. | 12,50 | 168,0 | 12,70 | 179,0 | 12,68 | 176,0 | 13,02 | 156,5 | 12,99 | 138,0 | 12,30 | 212,1 | 41,00 | 38,23 | 39,00 | 39,19 | 36,47 | 34,43 | 18½ |
| Mittel des 3. Abschnitts . | | *169,4* | | *185,9* | | *233,5* | | *149,3* | | *138,9* | | *229,0* | | | | | | | |
| Mittel der Periode II . . | *12,40* | *182,0* | *13,02* | *190,7* | *11,98* | *242,0* | *12,72* | *150,6* | *12,52* | *146,0* | *12,38* | *228,2* | *40,51* | *37,87* | *39,06* | *38,47* | *36,57* | *34,80* | 18,4 |

weiter, bei Ziege 1 verhältnismäßig rascher als bei den anderen Tieren, es schien, als ob der Harnstoff die Milchdrüse ungünstig beeinflußt hätte; nur bei Ziege 6 stieg die Milchmenge gegen Ende der Periode wieder leicht an, ohne indessen die Höhe in dem ersten Abschnitt zu erreichen. Ich hielt es für richtiger, bei der Berechnung der anzubringenden Korrektur infolge fortschreitender Lactation die Übergangstage von einer Periode zur anderen wie sonst üblich nicht auszuschalten, um auf diese Weise einen einheitlichen Überblick über das Lactationsstadium zu gewinnen, zumal die Tiere nicht in gleichem Sinne auf die Harnstoffbeifütterung reagierten. In keiner Weise ist hier ein günstiger Einfluß auf die Milchproduktion zu erkennen gewesen, wie ihn *Völtz* und *Hansen* bei ihren Versuchen mit Milchkühen beobachteten. Bei den *Völtz*schen[1]) Versuchen trat die Wirkung der Harnstoffzulage zu einem proteinreichen Futter schon am dritten Tage voll in Erscheinung, der Mehrertrag aus 1 kg Harnstoff betrug z. B. bei der Kuh Nr. 5 10,13 kg Milch.

2. *Fett.* Eine Steigerung des prozentigen Fettgehaltes bei Ziege 1, 3, 4, 5 ist unverkennbar. Die Fettmengen bleiben nahezu auf der gleichen Höhe, überschreiten aber nicht die in Periode 1 gefundenen Zahlen. Dieser günstige Einfluß auf die Fettprozente stimmt mit den von *Morgen*[2]) gemachten Beobachtungen überein.

Rohprotein und Milchzucker wurden aus der Sammelmilch bestimmt.

Periode II.

| | Menge | Mineral-stoffe | Gesamt-Stickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1 . . | 1465 | 0,845 | 0,513 | 7,51 | 3,20 | 46,93 | 3,60 | 52,86 | 4,75 | 69,59 |
| „ 2 . | 1463 | 0,855 | 0,527 | 7,71 | 3,29 | 48,18 | 3,97 | 58,24 | 4,91 | 71,83 |
| „ 3 . | 2029 | 0,889 | 0,516 | 10,47 | 3,22 | 65,43 | 2,93 | 59,19 | 4,94 | 100,20 |
| „ 4 . | 1181 | 0,925 | 0,518 | 6,12 | 3,23 | 38,25 | 4,18 | 49,02 | 4,39 | 51,85 |
| „ 5 . | 1170 | 0,900 | 0,509 | 5,96 | 3,18 | 37,25 | 4,27 | 46,63 | 4,47 | 52,30 |
| „ 6 . | 1860 | 0,817 | 0,453 | 8,45 | 2,83 | 52,81 | 3,60 | 67,28 | 5,13 | 95,42 |

3. *Rohprotein.* Die Unterschiede im prozentigen Rohproteingehalt sind sehr gering. Es ist eine unerhebliche Zunahme festzustellen. Die absoluten Zahlen haben im wechselndem Maße ständig abgenommen.

Über die Milchzuckermenge ist nichts Besonderes zu sagen.

Die Stalltemperatur war keinen größeren Schwankungen unterworfen.

*Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Über die Stoffwechselprodukte in der Periode II gibt die Tabelle VIII, S. 299, Auskunft. Die fünf ersten Tage fielen als Vorperiode von der Berechnung der Mittelzahlen aus.

Der getrocknete Kot hatte folgende Zusammensetzung:

[1]) Diese Zeitschr. **130**, 341, 1922.

[2]) a. a. O., S. 160.

Periode II.

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz | 97,97 | 599,80 | 97,98 | 604,24 | 96,34 | 644,51 | 96,28 | 606,60 |
| Asche | 10,15 | 60,87 | 12,60 | 76,13 | 11,98 | 77,21 | 10,68 | 64,78 |
| Organische Substanz | 87,82 | 526,74 | 85,38 | 515,86 | 84,36 | 543,70 | 85,60 | 519,25 |
| Gesamt-N | 1,70 | 10,19 | 1,86 | 11,24 | 1,88 | 12,11 | 1,76 | 10,67 |
| Rohprotein | 10,62 | 63,69 | 11,61 | 70,20 | 11,75 | 75,72 | 11,00 | 66,72 |
| Reineiweiß | 10,37 | 62,19 | 10,37 | 62,65 | 10,62 | 68,45 | 9,75 | 59,14 |
| Amide | 0,25 | 1,49 | 1,25 | 7,55 | 1,13 | 7,28 | 1,13 | 7,28 |
| Rohfett | 3,11 | 18,65 | 2,90 | 17,52 | 2,71 | 17,46 | 3,03 | 18,37 |
| Rohfaser | 26,95 | 161,64 | 27,42 | 165,67 | 28,32 | 182,52 | 27,33 | 165,78 |
| N-freie Extraktstoffe | 47,14 | 282,74 | 43,44 | 262,46 | 41,36 | 266,56 | 44,24 | 268,35 |
| Pepsinunlöslicher N | 1,07 | 6,41 | 1,08 | 6,52 | 1,12 | 7,21 | 1,06 | 6,42 |
| Rohprotein, pepsinunlöslich | 6,68 | 40,06 | 6,50 | 40,75 | 7,00 | 45,06 | 6,62 | 40,12 |

Die Kottrockensubstanz betrug bei Ziege 1: 42,97 Proz., Ziege 2: 44,31 Proz., Ziege 3: 44,48 Proz., Ziege 6: 43,18 Proz. in Prozenten des Frischkotes, war also größer als in der Grundfutterperiode.

Über die Verwertung der Nährstoffe gibt Tabelle IX, S. 300, einen Überblick. Der Gehalt an Stärkewert ergibt sich aus den verdauten Nährstoffen.

Periode II.

| | Gewicht kg | Fett kg | Rohfaser kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohprotein kg | Eiweiß kg | Amide kg | Stärkewert kg | Eiweißverhältnis aus Ges.-N | Milchertrag je 1000 kg kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 40,51 | 0,86 | 4,83 | 15,57 | 4,63 | **3,23** | 1,40 | **20,06** | 1 : 6,77 | 36,0 |
| „ 2 | 37,87 | 1,23 | 4,31 | 16,31 | 5,30 | **4,89** | 1,41 | **21,83** | 1 : 5,99 | 38,6 |
| „ 3 | 39,06 | 1,30 | 4,79 | 17,47 | 5,43 | **4,05** | 1,38 | **23,33** | 1 : 6,1 | 51,9 |
| „ 6 | 34,80 | 1,03 | 5,67 | 18,33 | 5,38 | **3,91** | 1,47 | 23,87 | 1 : 6,71 | 53,4 |
| | | | | | | | | | Mittel: | 45,0 |

Mit Hilfe der vorhergehenden Tabellen sind für die Aufstellung der Stickstoffbilanzen die Unterlagen geschaffen.

Stickstoffbilanzen der Periode II.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter | 40,33 | 43,34 | 46,04 | 40,72 |
| N im Kot | 10,19 | 11,24 | 12,11 | 10,67 |
| Verdaut | 30,14 | 32,10 | 34,10 | 30,05 |
| Davon im Harn | 20,15 | 21,97 | 20,59 | 19,83 |
| in der Milch | 7,51 | 7,71 | 10,47 | 8,45 |
| Summe | 27,65 | 28,68 | 31,06 | 28,28 |
| Ansatz | 2,49 | 2,42 | 3,04 | 1,77 |
| Gewichtsabnahme je Tag | 51 g | + 6 g | 16 g | 39 g |

*Tabelle VIII.* Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff. Periode II.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn-Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn-Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | | |
| Mittel der Periode I | **1872** | **737,6** | **6512** | **19,64** | **1655** | **658,2** | **5517** | **21,62** | |
| 23. VII. | 1562 | 580,4 | 8994 | 21,69 | 1723 | 669,9 | 7900 | 22,53 | Vorperiode |
| 24. VII. | 1479 | 586,1 | 6880 | 21,69 | 1518 | 648,2 | 6760 | 24,70 | |
| 25. VII. | 1420 | 644,7 | 6717 | 25,69 | 1413 | 630,1 | 5920 | 24,72 | |
| 26. VII. | 1233 | 578,4 | 5840 | 19,49 | 1468 | 668,9 | 4720 | 22,18 | |
| 27. VII. | 1308 | 578,3 | 4855 | 18,10 | 1468 | 647,7 | 4580 | 22,44 | |
| 28. VII. | 1400 | 613,8 | 5918 | 21,64 | 1454 | 615,5 | 5430 | 21,60 | |
| 29. VII. | 1501 | 622,0 | 6480 | 19,02 | 1468 | 644,8 | 5840 | 20,55 | |
| 30. VII. | 1388 | 608,8 | 6875 | 21,24 | 1487 | 599,5 | 5920 | 21,55 | |
| 31. VII. | 1242 | 547,1 | 5730 | 18,94 | 1313 | 557,1 | 4480 | 22,29 | |
| 1. VIII. | 1505 | 655,5 | 6540 | 20,01 | 1411 | 524,3 | 4790 | 21,65 | |
| 2. VIII. | 1528 | 669,6 | 7915 | 19,76 | 1386 | 617,3 | 5330 | 22,40 | |
| 3. VIII. | 1360 | 751,7 | 5972 | 19,87 | 1458 | 655,2 | 5120 | 21,41 | |
| 4. VIII. | 1408 | 630,2 | 5790 | 20,99 | 1434 | 582,4 | 5220 | 20,65 | |
| 5. VIII. | 1415 | 629,1 | 6330 | 19,63 | 1397 | 638,4 | 5750 | 22,33 | |
| 6. VIII. | 1315 | 566,5 | 5865 | 19,27 | 1333 | 602,1 | 5390 | 21,10 | |
| 7. VIII. | 1447 | 643,9 | 5674 | 19,21 | 1325 | 654,8 | 5740 | 20,80 | |
| 8. VIII. | 1432 | 606,5 | 6849 | 21,03 | 1365 | 624,4 | 5545 | 20,40 | |
| 9. VIII. | 1653 | 676,8 | 7398 | 20,77 | 1330 | 676,5 | 5980 | 21,16 | |
| 10. VIII. | 1260 | 532,9 | 5714 | 19,03 | 1481 | 611,4 | 5430 | 20,81 | |
| 11. VIII. | 1753 | 657,5 | 6000 | 19,84 | 1342 | 637,2 | 5280 | 22,98 | |
| 12. VIII. | 1646 | 625,1 | 6250 | 22,15 | 1388 | 626,1 | 5300 | 23,28 | |
| Mittel: | 1436 | 616,2 | 6319 | 20,15 | 1392 | 616,7 | 5409 | 21,97 | |
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | | |
| Mittel der Periode I | **1932** | **780,8** | **6496** | **18,66** | **1670** | **653,2** | **2158** | **20,41** | |
| 23. VII. | 1594 | 637,2 | 5830 | 23,99 | 1713 | 661,0 | 3884 | 21,45 | Vorperiode |
| 24. VII. | 1530 | 630,8 | 4690 | 24,12 | 1454 | 594,1 | 3800 | 20,84 | |
| 25. VII. | 1586 | 710,7 | 4880 | 19,29 | 1403 | 601,6 | 3790 | 23,90 | |
| 26. VII. | 1500 | 666,7 | 4830 | 22,02 | 1452 | 640,2 | 4400 | 20,66 | |
| 27. VII. | 1487 | 670,1 | 4560 | 21,18 | 1369 | 583,6 | 2420 | 20,28 | |
| 28. VII. | 1670 | 750,3 | 3900 | 19,52 | 1467 | 620,5 | 3711 | 19,82 | |
| 29. VII. | 1620 | 699,9 | 4680 | 20,19 | 1579 | 676,5 | 4900 | 19,28 | |
| 30. VII. | 1672 | 704,5 | 4750 | 19,17 | 1449 | 609,0 | 3620 | 20,40 | |
| 31. VII. | 1590 | 688,2 | 4350 | 19,94 | 1496 | 628,0 | 3680 | 18,96 | |
| 1. VIII. | 1552 | 614,2 | 4410 | 20,58 | 1502 | 673,3 | 4455 | 19,13 | |
| 2. VIII. | 1625 | 692,4 | 5470 | 20,16 | 1447 | 545,4 | 3770 | 17,93 | |
| 3. VIII. | 1372 | 634,4 | 3920 | 20,97 | 1362 | 600,1 | 3824 | 20,36 | |
| 4. VIII. | 1398 | 655,4 | 4000 | 18,87 | 1487 | 634,3 | 3680 | 22,64 | |
| 5. VIII. | 1606 | 733,3 | 4400 | 20,66 | 1456 | 621,2 | 2916 | 21,67 | |
| 6. VIII. | 1472 | 677,7 | 3350 | 20,44 | 1434 | 631,7 | 3403 | 20,48 | |
| 7. VIII. | 1457 | 676,3 | 4600 | 20,50 | 1382 | 642,0 | 3371 | 18,95 | |
| 8. VIII. | 1490 | 690,7 | 4950 | 21,13 | 1436 | 625,5 | 4167 | 18,38 | |
| 9. VIII. | 1599 | 693,2 | 3850 | 19,54 | 1382 | 631,7 | 3300 | 19,56 | |
| 10. VIII. | 1411 | 649,6 | 4730 | 21,71 | 1567 | 685,3 | 4683 | 19,49 | |
| 11. VIII. | 1259 | 616,6 | 5250 | 20,93 | 1447 | 636,8 | 4000 | 20,84 | |
| 12. VIII. | 1103 | 538,4 | 5500 | 24,08 | 1452 | 654,7 | 3420 | 19,38 | |
| Mittel: | 1504 | 669,0 | 4615 | 20,59 | 1459 | 630,0 | 3775 | 19,83 | |



*Tabelle IX.*

Verwertung der Nährstoffe in Periode II.

| | Gesamt-N | Aus Gesamt-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach *Stutzer* | Amide | Roh-fett | Roh-faser | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein | Eiweiß | Roh-protein | Eiweiß | | | | | |
| | g | g | g | g | g | | g | g | g | g |
| | | | | | Ziege 1 | | | | | |
| Einnahme . | 41,02 | 255,90 | 196,96 | 255,90 | 196,96 | — | 58,91 | 54,65 | 367,02 | 913,41 |
| ab Rest . . | 0,69 | 4,25 | 3,87 | 4,25 | 3,87 | — | 0,38 | 0,96 | 9,60 | 16,64 |
| | 40,33 | 251,65 | 193,09 | 251,65 | 193,09 | — | 58,53 | 53,69 | 357,42 | 896,77 |
| im Kot . . | 10,19 | 63,69 | 62,19 | 40,06 | 40,06 | — | 1,49 | 18,65 | 161,64 | 282,74 |
| Verdaut . . | 30,24 | 187,96 | 130,90 | 211,59 | 153,03 | 194,8 | 57,04 | 35,04 | 195,70 | 614,03 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,9 | 74,9 | 67,8 | 84,1 | 79,4 | 77,4 | 97,4 | 65,3 | 54,7 | 70,3 |
| | | | | | Ziege 2 | | | | | |
| Einnahme . | 43,44 | 271,10 | 210,76 | 271,10 | 210,76 | — | 60,09 | 64,55 | 330,52 | 882,51 |
| ab Rest . . | 0,10 | 0,62 | 0,52 | 0,62 | 0,52 | — | 0,06 | 0,14 | 1,40 | 2,40 |
| | 43,34 | 270,48 | 210,20 | 270,48 | 210,20 | — | 60,03 | 64,41 | 329,12 | 880,11 |
| im Kot . . | 11,24 | 70,20 | 62,65 | 40,75 | 40,75 | — | 7,55 | 17,52 | 165,67 | 262,46 |
| Verdaut . . | 32,10 | 200,28 | 147,55 | 229,73 | 169,45 | 213,93 | 52,48 | 46,89 | 163,40 | 617,65 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,1 | 74,1 | 70,2 | 84,9 | 80,6 | 79,1 | 87,4 | 72,8 | 49,65 | 70,2 |
| | | | | | Ziege 3 | | | | | |
| Einnahme . | 46,98 | 293,10 | 231,16 | 293,10 | 231,16 | — | 61,78 | 69,53 | 380,70 | 967,32 |
| ab Rest . . | 0,77 | 4,73 | 4,30 | 4,73 | 4,30 | — | 0,43 | 1,07 | 10,75 | 18,49 |
| | 46,21 | 288,37 | 226,86 | 288,37 | 226,86 | — | 61,35 | 68,46 | 379,95 | 948,83 |
| im Kot . . | 12,11 | 75,72 | 68,45 | 45,06 | 45,06 | — | 7,28 | 17,46 | 182,52 | 266,56 |
| Verdaut . . | 34,10 | 212,65 | 158,40 | 243,31 | 181,80 | 225,20 | 54,07 | 51,00 | 187,43 | 682,27 |
| Verdauungs-koeffizient . | 73,7 | 73,7 | 69,84 | 84,4 | 80,2 | 78,1 | 88,1 | 74,5 | 49,3 | 71,9 |
| | | | | | Ziege 6 | | | | | |
| Einnahme . | 41,02 | 255,90 | 196,96 | 255,90 | 196,96 | — | 58,91 | 54,65 | 367,02 | 913,41 |
| ab Rest . . | 0,30 | 1,84 | 1,68 | 1,84 | 1,68 | — | 0,16 | 0,42 | 4,20 | 7,22 |
| | 40,72 | 254,06 | 195,28 | 254,06 | 195,28 | — | 58,75 | 54,23 | 362,82 | 906,19 |
| im Kot . . | 10,67 | 66,72 | 59,14 | 40,12 | 40,12 | — | 7,56 | 18,37 | 165,78 | 268,35 |
| Verdaut . . | 30,05 | 187,34 | 136,14 | 213,94 | 155,16 | 196,3 | 51,17 | 35,86 | 197,04 | 637,84 |
| Verdauungs-koeffizient . | 73,7 | 73,7 | 69,7 | 84,2 | 79,5 | 77,2 | 87,1 | 66,1 | 54,3 | 70,4 |

Zunächst sei auf die ausgeschiedenen Kot- und Harnmengen hingewiesen. In der ersten Periode wurden größere Mengen eines wasserhaltigen Kotes ausgeschieden. Die prozentige Kottrockensubstanz war in der Harnstoffperiode durchweg größer als in der Grundfutterperiode. Dies steht im Widerspruch zu den Befunden *Scheunerts*[1]), welcher gerade in den Harnstoffperioden größere und wasserreichere Kotmnegen feststellte. *Scheunert* macht die diuretische Wirkung des Harnstoffs für das Auftreten der wasserreicheren Kotmassen verantwortlich.

Die Harnmengen bewegten sich in beiden Perioden auf ungefähr der gleichen Höhe, nur bei Ziege 6 trat eine Zunahme auf. Für die Beurteilung

[1]) Diese Zeitschr. **133**, 137, 1922.

und Vergleichung der Verdauungskoeffizienten des Rohproteins und Eiweiß wurde die Bestimmung aus dem pepsinsalzsäureunlöslichen Gesamt- und Reineiweißstickstoff zugrunde gelegt[1]).

Wenn man die Verdauungskoeffizienten der beiden Perioden miteinander vergleicht, sieht man, daß alle Nährstoffe ziemlich gleichmäßig verdaut wurden. Die Verdauungswerte für die Rohfaser in der Harnstoffperiode sind nur scheinbar niedriger, außerdem sind die Unterschiede nur gering. Durch den Fortfall der rohfaserfreien Hefe wurde die Ration prozentual rohfaserreicher, ebenso müssen die Verdauungskoeffizienten für Reineiweiß niedriger ausfallen, als in der Grundfutterperiode, da ja im Reineiweiß der Harnstoffstickstoff beim Ersatz der Hefe unberücksichtigt geblieben ist. Die Harnstoffütterung hat jedenfalls die Verdauung nicht in ungünstiger Weise beeinflußt. Die bisherigen Feststellungen einer Harnstoffverfütterung ergeben übereinstimmend, daß der Harnstoff die Verdaulichkeit in Fällen, wo vorher eine Depression eingetreten war, befördert[2]).

Die Stickstoffbilanzen sind überall positiv, wenn auch schwächer als in der Grundfutterperiode, gleichwohl vermochte der Harnstoff das Stickstoffgleichgewicht zu bewahren. Bei allen Tieren, mit Ausnahme von Ziege 2, ging mit der Harnstoffverfütterung eine geringe Körpergewichtsabnahme Hand in Hand, die bei Ziege 1 täglich rund 51 g, bei Ziege 3: 16 g, bei Ziege 6: 39 g betrug. Es ist aber dabei in Betracht zu ziehen, daß die Tiere in der Harnstoffperiode einen trockeneren Kot absetzten, so daß also die Körpergewichtsabnahme auf einen geringeren Wassergehalt des noch nicht ausgeschiedenen Frischkotes zurückzuführen sein könnte. Die Körpergewichtsangaben allein vermögen daher kein genaues Bild über den Eiweißumsatz zu geben. Es ist stets das Ergebnis der Stickstoffbilanz in Parallele zu ziehen. Die aufgetretene positive Bilanz kann als solche erst richtig gedeutet werden, wenn das Ergebnis der auf die Harnstoffütterung folgenden Grundfutterperiode vorliegt. Aus den Mittelzahlen der beiden die Harnstoffperiode einschließenden Grundfutterperioden ist eine bessere Ausgeglichenheit der durch Harnverdunstung entstandenen Fehler möglich. Immerhin läßt sich schon jetzt eine Berechnung aufstellen, ob eine Verwertung des Harnstoffstickstoffs im Sinne der Eiweißsynthese durch die Pansenbakterien stattgefunden hat (die positiven Bilanzen würden darauf hinweisen), oder ob der Harnstoff den Organismus unverarbeitet verlassen hätte. Hierzu ist erforderlich, anzunehmen, daß in der Harnstoffperiode bei gleichbleibender Gesamtstickstoffverfütterung dieselbe Stickstoffmenge zur Ausscheidung gelangt wäre wie in der ersten Periode.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ziege 1 | schied aus in Periode I | 19,64 g N | täglich im Harn |
| | „ „ II | 20,15 g N | „ „ „ |
| | also mehr in Periode II | 0,51 g N | täglich im Harn. |

In Periode II sind infolge geringerer Stickstoffaufnahme durch die Futterreste im Futter 1,89 g Stickstoff weniger aufgenommen und im Kot 0,56 g Stickstoff weniger abgesetzt, daher in Periode II 1,53 g Stickstoff weniger verdaut worden. Infolgedessen wurden im Harn in Periode II $1,33 + 0,51 = 1,84$ g Stickstoff mehr ausgeschieden als in Periode I, d. h., von den 7,4 g Harnstoffstickstoff haben 1,84 g den Organismus

[1]) Journ. f. Landwirtschaft 31, 221, 1883; 33, 149, 1885; 34, 425, 1886. Ztschr. f. physiol. Chem. 10, 170 u. 561, 1886; 11, 1, 1887.

[2]) *Morgen*, *Völtz* und *Honcamp*, a. a. O.

unverwertet verlassen, dies ergibt eine Ausnutzung von 75,3 Proz.; die gleiche Berechnung, auf die übrigen Tiere bezogen, stellt sich wie folgt:

bei Ziege 1 eine Mehrausscheidung von 1,84 g N = 75,3 Proz. Verwertung
„ „ 2 „ „ „ 1,88 g N = 74,6 „ „
„ „ 3 „ „ „ 2,16 g N = 71,1 „ „
„ „ 6 „ „ „ 0,78 g N = 89,4 „ „

Mittelzahl der vier Ziegen 77,5 Proz. Verwertung

Die Ziegen hätten daher den Harnstoff im Mittel zu 77 Proz. verwertet, dies ist etwas weniger als *Völtz'*[1]) Befund, dessen Harnstoffverwertung 85 Proz. betrug (Versuche mit Hammeln). Der Harnstoff hat demnach im Einklang mit den Ergebnissen von *Völtz* und *Honcamp*[2]) und im Gegensatz zu der Ansicht *Scheunerts*[3]) eiweißersetzend oder wenigstens eiweißsparend gewirkt.

Es bleibt noch übrig, der Frage näherzutreten, ob und in welchem Maße der Harnstoffstickstoff an der Milchleistung beteiligt ist. Für die Berechnung der für die Milch verfügbaren Stickstoffmenge muß man vom Minimalbedarf an Eiweiß für die Lebenshaltung ausgehen. Diesen Minimalbedarf für die in diesem Versuch benutzten Tiere zu ermitteln, lag nicht im Sinne der Aufgabe, es ist ausreichend hierüber gearbeitet worden. [*Kühn*[4]) und *Kellner*[5]) 0,55 bis 0,65 kg, *Morgen*[6]) 0,4 kg.] Die Kopenhagener[7]) Versuche gehen allerdings von einem noch geringeren Minimalbedarf aus.

Ich will meinen Berechnungen die mittlere Zahl von 0,5 kg verdaulichen Eiweißes, entsprechend 80 g Stickstoff je 1000 kg Lebendgewicht, zugrunde legen. Die Berechnung ist aus der Tabelle auf S. 303 und 304 zu ersehen. Zur Berechnung wurde die prozentige Ausnutzung des im Futter zugeführten und nach Ausschaltung des zum Ansatz gelangten verdauten, für die Milch verfügbaren Stickstoffs des Reineiweiß herangezogen[8]). Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß in der Grundfutterperiode bei Ziege 1 die Verwertung des Produktionseiweiß 41,4 Proz. betrug. Unter Zugrundelegung dieser Zahl berechnet sich für die Periode II ein Bedarf von 18,15 g Stickstoff. Da für die Milch aber nur 15,12 g Stickstoff zur Verfügung standen, wurden durch die verfütterte Menge von 16 g Harnstoff 3,03 g Stickstoff ersetzt. Dieselbe Berechnung, für die übrigen Ziegen ausgeführt, ergibt:

| | Bedarf an N | Zur Verfügung | Ersetzt durch 16 g Harnstoff |
|---|---|---|---|
| Ziege 1 . . . . . | 18,15 | 15,12 | 3,03 |
| „ 2 . . . . . | 22,35 | 18,15 | 4,20 |
| „ 3 . . . . . | 20,85 | 19,18 | 1,67 |
| „ 6 . . . . . | 22,04 | 17,24 | 4,80 |

Im Mittel der vier Tiere 3,42 N = 21,35 Eiweiß.

In der Milch wurden im Mittel 48,14 g Protein ausgeschieden, so daß 44 Proz. des Milcheiweiß durch Harnstoff ersetzt wurden. Diese Zahlen

[1]) a. a. O. — [2]) a. a. O. — [3]) a. a. O. — [4]) L. V. St. **44**, 257, 1894. — [5]) Ebendaselbst **47**, 257, 1896. — [6]) Ebendaselbst **66**, 63, 1907; **68**, 367, 1908. — [7]) Biedermanns Zentralbl. **37**, 393, 1908. — [8]) Die prozentigen Verwertungszahlen sind sehr verschieden und schwanken z. B. in den Versuchen *Morgens* für Grundfutter in derselben Versuchsreihe von 40 bis 70. Diese Schwankungen sind nach *Morgen* durch die Stellung der Perioden bedingt.

| | Periode | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | | II | | III | | IV | | V | | VI | | VII | |
| | Eiweiß-N | Amid-N | Eiweiß-N | Amid-N | Eiweiß-N | Amid-N | Eiweiß-N | Amid-N | Eiweiß-N | Amid-N | Eiweiß-N | Amid-N | Eiweiß-N | Amid-N |
| **Ziege 1** | | | | | | | | | | | | | | |
| Verdaut | 28,49 | 2,98 | 20,95 | 9,29 | 28,42 | 2,31 | 17,77 | 12,80 | 29,33 | 2,56 | 15,28 | 14,28 | 27,47 | 3,15 |
| Ab oder zu Gewinn | —2,45 | | —2,59 | | —3,57 | | —0,47 | | —5,51 | | —1,75 | | —3,92 | |
| oder Verlust | 26,04 | | 18,36 | | 24,85 | | 17,30 | | 23,82 | | 13,53 | | 23,55 | |
| Zur Lebenserhaltung nötig | 3,32 | | 3,24 | | 3,51 | | 3,28 | | 3,40 | | 3,40 | | 3,42 | |
| Für Milch verfügbar | 22,72 | | 15,12 | | 21,54 | | 14,02 | | 20,42 | | 10,13 | | 20,13 | |
| In der Milch | 9,40 | | 7,51 | | 6,92 | | 4,70 | | 5,11 | | 5,27 | | 6,38 | |
| In der Milch in Proz. der verfügbaren Menge | 41,37 | | 49,67 | | 32,08 | | 33,59 | | 25,03 | | 56,91 | | 31,69 | |
| Körpergewicht . . . kg | 41,59 | | 40,51 | | 41,47 | | 41,02 | | 42,50 | | 42,52 | | 42,71 | |
| Milchmenge . . . g | 1992 | | 1465 | | 1207 | | 847 | | 833 | | 888 | | 1123 | |
| **Ziege 2** | | | | | | | | | | | | | | |
| Verdaut | 30,47 | 3,14 | 23,10 | 8,45 | 29,85 | 2,69 | 19,60 | 13,78 | 30,07 | 2,54 | 16,11 | 14,57 | 28,19 | 2,52 |
| Ab oder zu Gewinn | —3,88 | | —2,42 | | —2,87 | | —1,13 | | —3,53 | | —3,18 | | —3,81 | |
| oder Verlust | 26,59 | | 21,18 | | 26,98 | | 18,57 | | 26,54 | | 12,93 | | 24,38 | |
| Zur Lebenserhaltung nötig | 3,02 | | 3,03 | | 3,12 | | 3,08 | | 3,22 | | 3,12 | | 3,24 | |
| Für Milch verfügbar | 23,57 | | 18,15 | | 23,86 | | 15,49 | | 23,32 | | 9,81 | | 21,14 | |
| In der Milch | 8,13 | | 7,71 | | 7,61 | | 5,13 | | 7,23 | | 4,92 | | 6,27 | |
| In der Milch in Proz. der verfügbaren Menge | 34,49 | | 42,48 | | 31,90 | | 33,12 | | 31,00 | | 50,19 | | 29,66 | |
| Körpergewicht . . . kg | 37,74 | | 37,87 | | 39,07 | | 38,54 | | 40,30 | | 39,07 | | 40,56 | |
| Milchmenge . . . g | 1683 | | 1463 | | 1402 | | 1136 | | 1197 | | 809 | | 987 | |

Ziege 3

| | I Eiweiß-N | I Amid-N | II Eiweiß-N | II Amid-N | III Eiweiß-N | III Amid-N | IV Eiweiß-N | IV Amid-N | V Eiweiß-N | V Amid-N | VI Eiweiß-N | VI Amid-N | VII Eiweiß-N | VII Amid-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Verdaut | 31,48 | 2,87 | 25,34 | 8,76 | 32,90 | 2,58 | 21,18 | 13,29 | 32,60 | 3,26 | 18,64 | 14,01 | 30,86 | 3,10 |
| Ab oder zu Gewinn | — 2,95 | | — 3,04 | | — 4,14 | | + 0,52 | | — 5,98 | | — 2,95 | | — 3,67 | |
| oder Verlust | 28,53 | | 22,30 | | 28,76 | | 21,70 | | 26,62 | | 15,69 | | 27,19 | |
| Zur Lebenserhaltung nötig | 3,15 | | 3,12 | | 3,20 | | 3,11 | | 3,18 | | 3,13 | | 3,21 | |
| Für Milch verfügbar | 25,38 | | 19,18 | | 25,56 | | 18,59 | | 23,44 | | 12,56 | | 23,98 | |
| In der Milch | 12,74 | | 10,47 | | 10,57 | | 9,95 | | 10,05 | | 7,02 | | 8,45 | |
| In der Milch in Proz. der verfügbaren Menge | 50,20 | | 54,59 | | 41,35 | | 53,52 | | 42,88 | | 55,89 | | 35,24 | |
| Körpergewicht kg | 39,40 | | 39,06 | | 40,00 | | 38,91 | | 39,79 | | 39,08 | | 40,18 | |
| Milchmenge g | 2503 | | 2029 | | 1902 | | 1678 | | 1664 | | 1202 | | 1119 | |

Ziege 6

| | I Eiweiß-N | I Amid-N | II Eiweiß-N | II Amid-N | III Eiweiß-N | III Amid-N | IV Eiweiß-N | IV Amid-N | V Eiweiß-N | V Amid-N | VI Eiweiß-N | VI Amid-N | VII Eiweiß-N | VII Amid-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Verdaut | 28,45 | 2,96 | 21,79 | 8,26 | 28,80 | 2,52 | 18,14 | 12,86 | 27,92 | 2,79 | 15,45 | 13,62 | 29,07 | 2,44 |
| Ab oder zu Gewinn | — 1,75 | | — 1,77 | | — 3,59 | | — 0,31 | | — 4,72 | | — 1,06 | | — 4,50 | |
| oder Verlust | 26,70 | | 20,02 | | 25,21 | | 17,83 | | 23,20 | | 14,39 | | 24,57 | |
| Zur Lebenserhalung nötig | 2,84 | | 2,78 | | 2,83 | | 2,81 | | 2,93 | | 2,88 | | 2,92 | |
| Für Milch verfügbar | 23,86 | | 17,24 | | 22,38 | | 15,02 | | 20,27 | | 11,51 | | 21,65 | |
| In der Milch | 9,15 | | 8,45 | | 8,03 | | 6,56 | | 7,27 | | 6,22 | | 6,97 | |
| In der Milch in Proz. der verfügbaren Menge | 38,35 | | 49,02 | | 35,88 | | 43,68 | | 35,87 | | 54,04 | | 32,19 | |
| Körpergewicht kg | 35,62 | | 34,80 | | 35,48 | | 35,22 | | 36,63 | | 36,02 | | 36,52 | |
| Milchmenge g | 1951 | | 1860 | | 1746 | | 1559 | | 1458 | | 1198 | | 1378 | |

liegen etwas höher als diejenigen *Morgens*[1]), welcher bei seinen Asparagin- und Ammonacetatversuchen eine Verwertung von 23,7 bis 42,0 Proz., im Mittel 32,2 Proz. fand. In früheren Jahren wurden ähnliche Zahlen gefunden (37 bis 45 Proz.).

*Das bisherige Ergebnis dieser Periode kann dahin gedeutet werden — und dies ist bereits auch von anderer Seite geschehen*[2]) —, *daß der Harnstoff als teilweiser Ersatz des Eiweiß bei der Milchproduktion und beim Stoffumsatz Verwendung gefunden hat.*

**Periode III: Grundfutterperiode.**

Der Harnstoffperiode folgte eine 14tägige Periode, in der dasselbe Grundfutter gereicht wurde wie in der Periode I (s. Tabelle II, S. 283).

Die Erträge an Milch und Milchbestandteilen sind in Tabelle X zusammengestellt.

*Wirkung auf Menge und Gehalt der Milch.*

1. *Milchmenge und Trockensubstanz.* Bei Ziege 1 vermochte der Futterwechsel nicht, das starke Sinken aufzuhalten, die Abnahme war stetig und gleichmäßig, ohne sprunghafte Unterschiede. Ähnlich verhielten sich die Ziegen 2, 5 und 6. Dieses stetige Absinken, auch in der zweiten Grundfutterperiode könnte als Beweis angesehen werden, daß der Harnstoff eiweißsparend oder eiweißvertretend gewirkt hätte. Diese dauernde, durch alle Perioden sich hinziehende Abnahme wäre dann als eine Wirkung der fortschreitenden Lactation zu betrachten. Hätte der Harnstoff nicht eiweißersetzend gewirkt, so hätte das durch das Weglassen der Hefe in der zweiten Periode bedingte eiweißärmere Futter eine Verminderung in der Milchleistung hervorgerufen, die durch die darauf folgende Grundfutterperiode hätte behoben werden müssen. Eine Steigerung der Milchproduktion hätte alsdann eintreten müssen. Dies trifft bei Ziege 3 im zweiten Abschnitt der Periode III in geringem Maße zu, bei Ziege 4 wurde sogar das Ergebnis der Hauptperiode überholt. Die beiden sich widersprechenden Resultate waren der Grund dafür, daß von dem Ausschalten einer Vorperiode Abstand genommen wurde.

2. *Fettgehalt.* Bei Ziege 2 ist eine geringe Zunahme im prozentigen Fettgehalt wahrzunehmen, auch die Fettmenge hat bei diesem Tier die in der vorangegangenen Periode gefundenen Zahlen überschritten, vermutlich als Folge der eiweißreicheren Grundfutterration. Im allgemeinen weichen die Mittelzahlen von dem Ergebnis der Periode II nur unwesentlich ab.

Der Gehalt an Rohprotein und Milchzucker ergibt sich aus der Gesamtanalyse.

Periode III.

| | Menge | Mineralstoffe | Gesamt-Stickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1 . | 1207 | 0,758 | 0,573 | 6,92 | 3,58 | 43,25 | 3,61 | 43,61 | 4,47 | 53,95 |
| „ 2 . | 1402 | 0,921 | 0,543 | 7,61 | 3,39 | 47,56 | 4,29 | 60,24 | 4,82 | 67,58 |
| „ 3 . | 1902 | 0,856 | 0,556 | 10,57 | 3,47 | 66,06 | 2,90 | 54,24 | 4,73 | 89,96 |
| „ 4 . | 1188 | 0,885 | 0,560 | 6,65 | 3,50 | 41,56 | 4,20 | 49,87 | 4,53 | 53,82 |
| „ 5 . | 1151 | 0,898 | 0,526 | 6,05 | 3,28 | 37,81 | 4,03 | 46,46 | 4,56 | 52,49 |
| „ 6 . | 1746 | 0,786 | 0,460 | 8,03 | 2,87 | 50,18 | 3,69 | 64,99 | 4,96 | 86,60 |

[1]) L. V. St. 75, 279, 1911.

[2]) Versuche von *Völtz, Hansen, Honcamp* und *Morgen*, a. a. O.

*Tabelle X.*

Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode III.

| | Milchmenge | | | | | | Fettgehalt | | | | | | | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | |
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| Mittel der Periode II | **1465** | **1463** | **2029** | **1181** | **1170** | **1860** | **3,60** | **52,86** | **3,97** | **58,24** | **2,98** | **59,19** | **4,18** | **49,02** | **3,97** | **46,68** | **3,60** | **67,28** | **18,4** |
| 13. VIII. | 1332 | 1450 | 1620 | 1249 | 1091 | 1698 | 3,60 | 48,00 | 4,15 | 60,25 | 3,80 | 61,63 | 4,25 | 51,80 | 3,90 | 42,60 | 3,65 | 62,00 | 19 |
| 14. VIII. | 1292 | 1416 | 1838 | 1179 | 1125 | 1839 | 3,45 | 44,55 | 4,20 | 59,50 | 2,90 | 53,40 | 4,00 | 47,16 | 3,70 | 41,60 | 3,90 | 71,60 | 18 |
| 15. VIII. | 1222 | 1458 | 1909 | 1187 | 1154 | 1814 | 3,70 | 45,35 | 4,30 | 62,70 | 2,50 | 47,70 | 4,20 | 50,00 | 3,90 | 45,12 | 3,60 | 65,45 | 18½ |
| 16. VIII. | 1229 | 1398 | 1983 | 1237 | 1142 | 1808 | 3,40 | 41,80 | 4,20 | 58,70 | 2,30 | 45,70 | 4,00 | 49,48 | 3,70 | 42,25 | 3,55 | 64,25 | 18½ |
| 17. VIII. | 1215 | 1359 | 1928 | 1163 | 1168 | 1755 | 3,95 | 48,00 | 4,30 | 58,50 | 2,45 | 47,24 | 4,10 | 47,68 | 3,95 | 46,19 | 3,80 | 66,80 | 18 |
| 18. VIII. | 1197 | 1396 | 1944 | 1138 | 1157 | 1772 | 3,50 | 41,95 | 4,40 | 61,50 | 2,60 | 50,51 | 4,20 | 47,80 | 3,85 | 44,51 | 3,65 | 64,75 | 18 |
| 19. VIII. | 1237 | 1441 | 1970 | 1189 | 1189 | 1777 | 3,55 | 44,00 | 4,35 | 62,75 | 2,90 | 47,15 | 4,10 | 49,70 | 4,25 | 50,50 | 3,45 | 59,25 | 17 |
| Mittel des 1. Abschn. | **1276** | **1419** | **1885** | **1192** | **1149** | **1772** | | **44,81** | | **60,56** | | **50,48** | | **49,87** | | **44,68** | | **64,87** | |
| 20. VIII. | 1236 | 1427 | 1886 | 1249 | 1153 | 1851 | 3,60 | 44,50 | 4,20 | 60,00 | 2,90 | 54,75 | 4,35 | 54,35 | 4,30 | 49,55 | 4,00 | 74,04 | 16½ |
| 21. VIII. | 1150 | 1425 | 1845 | 1144 | 1152 | 1689 | 3,60 | 41,50 | 4,20 | 60,00 | 2,95 | 54,50 | 4,20 | 48,21 | 4,25 | 49,00 | 3,30 | 55,80 | 16½ |
| 22. VIII. | 1136 | 1424 | 1882 | 1212 | 1189 | 1744 | 3,55 | 40,45 | 4,25 | 60,60 | 3,10 | 58,45 | 4,25 | 51,51 | 4,15 | 49,38 | 4,05 | 70,60 | 16 |
| 23. VIII. | 1151 | 1411 | 2008 | 1231 | 1181 | 1759 | 3,55 | 41,00 | 4,15 | 58,60 | 3,05 | 61,30 | 3,95 | 48,70 | 4,05 | 48,05 | 3,40 | 59,75 | 19 |
| 24. VIII. | 1247 | 1344 | 1950 | 1130 | 1103 | 1744 | 3,80 | 47,45 | 4,40 | 59,20 | 2,85 | 55,53 | 4,30 | 48,60 | 4,30 | 47,50 | 3,80 | 66,40 | 17 |
| 25. VIII. | 1097 | 1307 | 1921 | 1166 | 1142 | 1607 | 3,65 | 40,00 | 4,45 | 58,20 | 3,15 | 60,51 | 4,35 | 50,75 | 4,10 | 47,00 | 3,60 | 57,80 | 16½ |
| 26. VIII. | 1153 | 1381 | 1948 | 1151 | 1161 | 1645 | 3,65 | 42,00 | 4,55 | 63,00 | 3,15 | 61,30 | 4,55 | 52,50 | 4,05 | 47,15 | 3,90 | 64,25 | 17 |
| Mittel des 2. Abschn. | **1169** | **1389** | **1920** | **1163** | **1154** | **1719** | | **42,41** | | **59,94** | | **58,04** | | **50,66** | | **48,28** | | **64,10** | |
| Mittel der Periode III | **1207** | **1402** | **1902** | **1188** | **1151** | **1746** | **3,61** | **43,61** | **4,29** | **60,24** | **2,90** | **54,24** | **4,20** | **49,87** | **4,08** | **46,46** | **3,69** | **64,49** | **17½** |

*Tabelle X* (Fortsetzung).

Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode III.

| | Trockensubstanz | | | | | | | | | | | | Körpergewicht | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | | | | | | | Ziege | | | | | | |
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | kg | kg | kg | kg | kg | kg | Grad |
| Mittel der Periode II | **12,40** | **182,0** | **13,02** | **190,7** | **11,98** | **242,0** | **12,72** | **150,6** | **12,52** | **146,0** | **12,38** | **228,2** | **40,51** | **37,87** | **39,06** | **38,47** | **36,57** | **34,80** | **18,4** |
| 13. VIII. | 12,25 | 163,1 | 13,24 | 192,1 | 12,51 | 203,5 | 12,99 | 162,0 | 12,61 | 138,0 | 12,22 | 207,7 | 40,33 | 39,26 | 39,44 | 38,58 | 36,22 | 34,78 | 19 |
| 14. VIII. | 12,15 | 157,0 | 13,31 | 188,5 | 11,67 | 214,4 | 12,99 | 153,0 | 12,36 | 139,1 | 12,52 | 230,0 | 40,76 | 39,36 | 39,69 | 38,10 | 36,28 | 35,60 | 18 |
| 15. VIII. | 12,66 | 155,0 | 13,46 | 196,0 | 11,63 | 222,0 | 13,16 | 156,2 | 12,71 | 147,0 | 12,25 | 222,1 | 42,16 | 39,75 | 40,21 | 38,72 | 36,55 | 35,79 | 18 1/2 |
| 16. VIII. | 12,48 | 153,1 | 13,31 | 185,0 | 11,24 | 221,0 | 13,05 | 161,1 | 12,67 | 144,7 | 12,22 | 221,5 | 41,67 | 39,17 | 39,91 | 39,49 | 36,66 | 35,54 | 18 1/2 |
| 17. VIII. | 12,69 | 154,0 | 13,53 | 184,0 | 11,54 | 222,5 | 12,98 | 151,0 | 12,49 | 145,9 | 12,40 | 218,0 | 41,48 | 38,76 | 39,78 | 38,51 | 36,74 | 35,66 | 18 |
| 18. VIII. | 12,29 | 147,0 | 13,61 | 190,6 | 11,79 | 229,2 | 12,99 | 147,5 | 12,51 | 145,0 | 12,32 | 218,4 | 41,70 | 39,17 | 40,20 | 38,78 | 36,76 | 35,67 | 18 |
| 19. VIII. | 12,31 | 152,1 | 13,54 | 195,0 | 12,07 | 237,5 | 12,92 | 153,5 | 12,94 | 153,8 | 12,12 | 208,1 | 41,63 | 39,30 | 40,23 | 38,40 | 36,84 | 35,28 | 17 |
| Mittel des 1. Abschn. | | **154,5** | | **190,2** | | **221,4** | | **157,8** | | **144,8** | | **217,9** | | | | | | | |
| 20. VIII. | 12,48 | 154,1 | 13,27 | 189,1 | 12,08 | 227,8 | 13,25 | 165,1 | 13,05 | 150,5 | 12,72 | 236,0 | 41,08 | 39,13 | 39,46 | 40,22 | 36,50 | 35,41 | 16 1/2 |
| 21. VIII. | 12,39 | 142,9 | 13,34 | 190,2 | 12,01 | 222,0 | 13,24 | 152,0 | 13,24 | 152,5 | 11,91 | 201,9 | 41,30 | 39,22 | 40,00 | 38,00 | 36,26 | 35,20 | 16 1/2 |
| 22. VIII. | 12,31 | 140,0 | 13,37 | 190,7 | 12,12 | 228,1 | 13,08 | 158,8 | 12,89 | 153,0 | 12,40 | 216,1 | 41,53 | 39,10 | 40,21 | 38,30 | 36,30 | 35,35 | 16 |
| 23. VIII. | 12,44 | 143,5 | 13,25 | 188,1 | 12,26 | 246,2 | 12,86 | 158,6 | 12,85 | 152,5 | 12,12 | 213,6 | 41,74 | 38,80 | 40,00 | 38,85 | 36,20 | 35,70 | 19 |
| 24. VIII. | 12,58 | 156,7 | 13,60 | 183,0 | 12,02 | 234,4 | 13,18 | 148,9 | 12,95 | 143,0 | 12,41 | 216,6 | 42,00 | 38,61 | 39,65 | 38,68 | 36,07 | 35,51 | 17 |
| 25. VIII. | 12,46 | 136,6 | 13,66 | 178,5 | 12,29 | 236,0 | 13,29 | 155,0 | 12,87 | 147,3 | 12,21 | 196,0 | 41,29 | 38,55 | 40,07 | 39,70 | 36,79 | 35,48 | 16 1/2 |
| 26. VIII. | 12,44 | 143,8 | 13,57 | 187,8 | 12,31 | 240,0 | 13,67 | 157,8 | 12,63 | 147,0 | 12,20 | 200,8 | 41,96 | 38,90 | 40,00 | 38,62 | 36,43 | 35,71 | 17 |
| Mittel des 2. Abschn. | | **145,7** | | **186,8** | | **233,5** | | **156,6** | | **149,4** | | **211,7** | | | | | | | |
| Mittel der Periode III | **12,42** | **149,9** | **13,42** | **188,5** | **11,96** | **227,5** | **13,11** | **155,8** | **12,76** | **147,1** | **12,29** | **214,7** | **41,47** | **39,07** | **40,00** | **38,78** | **36,47** | **35,48** | **17 1/2** |

Die Prozentzahlen für Rohprotein haben eine Zunahme erfahren, die absoluten sind nahezu unverändert geblieben. Über die Veränderung des Milchzuckers ist nichts Wesentliches zu berichten.

*Wirkung auf den Stoffumsatz.*

Über die Stoffwechselprodukte der Grundfutterperiode III ist das Nötige aus der Tabelle XI, S. 309, zu ersehen. Auf die Vorperiode wurden wiederum 5 Tage angerechnet.

In der Kottrockensubstanz waren folgende Einzelbestandteile:

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz | 95,34 | 632,40 | 95,93 | 658,50 | 95,69 | 651,60 | 96,35 | 627,70 |
| Asche | 11,54 | 72,97 | 12,43 | 81,85 | 12,81 | 83,47 | 11,50 | 72,18 |
| Organ. Substanz | 83,80 | 529,95 | 83,50 | 549,84 | 82,88 | 540,04 | 85,85 | 532,60 |
| Gesamt-N | 1,83 | 11,57 | 1,86 | 12,25 | 1,95 | 12,70 | 1,75 | 10,98 |
| Rohprotein | 11,44 | 72,35 | 11,62 | 76,51 | 12,18 | 79,36 | 10,94 | 68,67 |
| Reineiweiß | 10,37 | 65,58 | 10,68 | 70,32 | 10,88 | 70,89 | 10,06 | 63,14 |
| Amide | 1,07 | 6,77 | 0,94 | 6,19 | 1,30 | 8,47 | 0,88 | 5,52 |
| Rohfett | 3,11 | 19,79 | 2,63 | 17,31 | 3,05 | 19,87 | 3,39 | 21,27 |
| Rohfaser | 27,91 | 176,50 | 27,46 | 180,80 | 21,38 | 139,31 | 22,15 | 139,03 |
| N-freie Extraktstoffe | 41,34 | 261,43 | 41,78 | 275,21 | 46,27 | 301,45 | 48,37 | 303,62 |
| Pepsinunlösl. N | 1,07 | 6,76 | 1,16 | 7,63 | 1,21 | 7,88 | 1,06 | 6,65 |
| Pepsinunlösliches Rohprotein | 6,68 | 47,75 | 7,25 | 47,68 | 7,56 | 49,25 | 6,62 | 41,56 |

Die Kottrockensubstanz in Prozenten des Frischkotes betrug bei Ziege 1: 42,33 Proz., bei Ziege 2: 42,31 Proz., bei Ziege 3: 42,33 Proz., bei Ziege 6: 41,71 Proz. Es wurde demnach wieder mehr Frischkot mit einem größeren Wassergehalt ausgeschieden, die Tiere haben an Körpergewicht zugenommen. Die Verwertung der Nährstoffe ergibt nach Abzug der Futterreste folgende Zahlen (Tabelle XII, S. 310):

Ziege 6 hinterließ geringe Futterreste, auch trat bei diesem Tier eine Verdauungsdepression der Rohfaser und der stickstofffreien Extraktstoffe ein. Die Ursache hierfür läßt sich nicht feststellen, da die Verdauungskoeffizienten der übrigen Nährstoffe ein ganz normales Bild boten.

Aus den Verdauungskoeffizienten berechnet sich dann der Stärkewert der Ration wie folgt:

Periode III.

| | Gewicht kg | Fett kg | Rohfaser kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohprotein kg | Eiweiß kg | Amide kg | Stärkewert kg | Eiweißverhältnis aus Ges.-N | Milchertrag je 1000 kg kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 41,47 | 0,90 | 4,84 | 14,69 | 4,63 | **4,28** | 0,35 | **20,89** | 1 : 5,01 | **29,1** |
| „ 2 | 39,05 | 1,27 | 3,86 | 13,41 | 5,19 | **4,77** | 0,42 | 20,33 | 1 : 4,20 | **35,9** |
| „ 3 | 40,00 | 1,30 | 6,24 | 14,24 | 5,53 | **5,14** | 0,39 | **23,32** | 1 : 4,54 | **47,5** |
| „ 6 | 35,48 | 0,99 | 6,57 | 15,61 | 5,39 | **4,96** | 0,43 | **23,70** | 1 : 4,91 | **49,2** |
| | | | | | | | | | Mittel: | **40,4** |

Das Eiweißverhältnis hat sich nicht verschoben.

*Tabelle XI.* Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff. Periode III.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn-Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn-Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | | |
| Mittel der Periode II | 1436 | 616,2 | 6319 | 20,15 | 1392 | 616,7 | 5409 | 21,97 | |
| 13. VIII. | 1398 | 577,9 | 7445 | 20,04 | 1600 | 723,1 | 4450 | 18,87 | Vorperiode |
| 14. VIII. | 1453 | 647,1 | 4882 | 20,56 | 1677 | 746,1 | 4320 | 21,89 | |
| 15. VIII. | 1528 | 656,9 | 6374 | 19,49 | 1643 | 692,8 | 6520 | 23,04 | |
| 16. VIII. | 1637 | 669,4 | 5840 | 20,49 | 1763 | 734,4 | 5450 | 22,42 | |
| 17. VIII. | 1638 | 760,9 | 6394 | 19,22 | 1573 | 654,5 | 5100 | 22,61 | |
| 18. VIII. | 1653 | 766,7 | 6500 | 19,15 | 1643 | 692,2 | 4760 | 21,08 | |
| 19. VIII. | 1640 | 704,1 | 6650 | 20,08 | 1630 | 688,3 | 4920 | 20,55 | |
| 20. VIII. | 1558 | 646,9 | 4950 | 20,06 | 1660 | 678,4 | 4470 | 22,55 | |
| 21. VIII. | 1604 | 663,6 | 5850 | 19,31 | 1741 | 741,6 | 5790 | 22,52 | |
| 22. VIII. | 1454 | 614,7 | 6930 | 20,33 | 1566 | 675,0 | 5420 | 22,43 | |
| 23. VIII. | 1531 | 657,6 | 5750 | 21,11 | 1630 | 681,6 | 5620 | 22,46 | |
| 24. VIII. | 1573 | 663,3 | 7325 | 20,76 | 1546 | 667,5 | 6060 | 22,06 | |
| 25. VIII. | 1575 | 663,4 | 6180 | 20,09 | 1567 | 656,0 | 5000 | 22,40 | |
| 26. VIII. | 1516 | 686,4 | 5800 | 21,25 | 1615 | 697,3 | 5320 | 22,49 | |
| Mittel: | 1567 | 663,3 | 6215 | 20,24 | 1622 | 686,5 | 5262 | 22,06 | |
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | | |
| Mittel der Periode II | 1504 | 669,0 | 4615 | 20,59 | 1459 | 630,0 | 3775 | 19,83 | |
| 13. VIII. | 1290 | 603,9 | 4930 | 21,97 | 1498 | 646,0 | 2908 | 18,01 | Vorperiode |
| 14. VIII. | 1484 | 668,5 | 3350 | 21,56 | 1452 | 632,0 | 3000 | 20,86 | |
| 15. VIII. | 1657 | 706,4 | 4250 | 20,24 | 1547 | 666,4 | 3950 | 22,61 | |
| 16. VIII. | 1789 | 745,4 | 4180 | 20,38 | 1622 | 658,4 | 3900 | 20,64 | |
| 17. VIII. | 1630 | 681,6 | 4000 | 20,86 | 1592 | 667,9 | 3000 | 18,81 | |
| 18. VIII. | 1593 | 676,6 | 3700 | 20,46 | 1757 | 696,2 | 4200 | 18,36 | |
| 19. VIII. | 1615 | 685,0 | 4285 | 20,95 | 1442 | 601,9 | 3500 | 19,83 | |
| 20. VIII. | 1600 | 668,2 | 4020 | 20,88 | 1529 | 627,4 | 4318 | 20,65 | |
| 21. VIII. | 1620 | 687,0 | 4750 | 21,30 | 1752 | 687,2 | 3470 | 18,69 | |
| 22. VIII. | 1685 | 707,7 | 4320 | 20,58 | 1716 | 645,8 | 3250 | 19,54 | |
| 23. VIII. | 1552 | 693,2 | 4400 | 20,29 | 1622 | 701,5 | 3420 | 19,53 | |
| 24. VIII. | 1650 | 692,7 | 3920 | 20,82 | 1448 | 625,7 | 3615 | 20,88 | |
| 25. VIII. | 1559 | 737,1 | 4600 | 20,79 | 1377 | 612,7 | 3340 | 20,88 | |
| 26. VIII. | 1554 | 682,9 | 4750 | 20,86 | 1531 | 658,3 | 3260 | 18,93 | |
| Mittel: | 1602 | 681,0 | 4324 | 20,77 | 1562 | 651,5 | 3597 | 19,70 | |

Für die Aufstellung der Stickstoffbilanz sind folgende Zahlen maßgebend:

Stickstoffbilanzen der Periode III.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter . . . . . . . | 42,30 | 44,79 | 48,18 | 42,30 |
| N im Kot . . . . . . . . | 11,57 | 12,25 | 12,70 | 10,98 |
| Verdaut . . . . . . . . . | 30,73 | 32,54 | 35,48 | 31,32 |
| Davon im Harn . . . . . | 20,24 | 22,06 | 20,77 | 19,70 |
| in der Milch . . . . . . | 6,92 | 7,61 | 10,57 | 8,03 |
| Summe . . . . . . . . . | 27,16 | 29,67 | 31,34 | 27,73 |
| Ansatz . . . . . . . . . . | 3,57 | 2,87 | 4,14 | 3,59 |
| Gewichtszunahme je Tag . | 68 g | 85 g | 67 g | 48 g |

*Tabelle XII.* Verwertung der Nährstoffe in der Periode III.

| | Gesamt-N | Aus Gesamt-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach *Stutzer* | Amide | Roh-faser | Roh-fett | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein | Eiweiß | Roh-protein | Eiweiß | | | | | |
| | g | g | g | g | g | | g | g | g | g |
| | | | | Ziege 1 | | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | | 21,18 | 377,60 | 57,31 | 870,67 |
| Im Kot . . | 11,57 | 72,35 | 65,58 | 42,25 | 42,25 | | 6,77 | 176,50 | 19,79 | 261,43 |
| Verdaut . . | 30,73 | 192,02 | 177,58 | 222,12 | 200,91 | 196,76 | 14,71 | 201,10 | 37,52 | 609,24 |
| Verdauungs-koeffizient . | 72,6 | 72,6 | 73,0 | 84,0 | 82,6 | 74,4 | 68,0 | 53,3 | 65,5 | 69,9 |
| | | | | Ziege 2 | | | | | | |
| Einnahme . | 44,79 | 279,57 | 256,96 | 279,57 | 256,96 | | 22,45 | 341,10 | 67,21 | 790,15 |
| Im Kot . . | 12,25 | 76,51 | 70,32 | 47,68 | 47,68 | | 6,19 | 180,80 | 17,31 | 275,20 |
| Verdaut . . | 32,54 | 203,06 | 186,64 | 231,89 | 209,28 | 213,62 | 16,26 | 160,30 | 49,90 | 514,95 |
| Verdauungs-koeffizient . | 72,6 | 72,6 | 72,6 | 82,9 | 81,5 | 76,4 | 72,4 | 48,1 | 74,2 | 65,2 |
| | | | | Ziege 3 | | | | | | |
| Einnahme . | 48,33 | 301,57 | 277,36 | 301,57 | 277,36 | | 24,05 | 391,28 | 72,19 | 874,95 |
| Ab Rest . . | 0,15 | 0,95 | 0,87 | 0,95 | 0,87 | | 0,08 | 2,17 | 0,21 | 3,74 |
| | 48,18 | 300,62 | 276,49 | 300,62 | 276,49 | | 23,97 | 389,11 | 71,98 | 871,21 |
| Im Kot . . | 12,70 | 79,36 | 70,89 | 49,25 | 49,25 | | 8,47 | 139,31 | 19,87 | 301,45 |
| Verdaut . . | 35,48 | 221,26 | 205,70 | 251,37 | 227,24 | 226,90 | 15,50 | 249,80 | 52,11 | 569,76 |
| Verdauungs-koeffizient . | 73,6 | 73,6 | 74,4 | 83,6 | 82,2 | 75,5 | 64,4 | 62,2 | 72,4 | 65,4 |
| | | | | Ziege 6 | | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | | 21,18 | 377,60 | 57,31 | 870,67 |
| Im Kot . . | 10,98 | 68,67 | 63,14 | 41,56 | 41,56 | | 5,52 | 139,03 | 21,27 | 303,62 |
| Verdaut . . | 31,32 | 195,70 | 180,02 | 222,81 | 201,60 | 196,76 | 15,66 | 238,57 | 36,04 | 567,05 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,0 | 74,0 | 74,1 | 84,2 | 82,9 | 74,4 | 73,9 | 63,1 | 62,9 | 65,1 |

Die Bilanzen sind, wie nicht anders zu erwarten, überall positiv.

Die Harnstoffperiode war von zwei Grundfutterperioden eingeschlossen. Das Mittel des Stickstoffansatzes aus diesen beiden Perioden gibt dann diejenige Stickstoffmenge an, welche die Tiere verwertet hätten, wenn die Fütterungsweise in der Harnstoffperiode bei gleichbleibendem Stickstoffgehalt unverändert geblieben wäre.

Es wurden angesetzt bei

| | In Periode I | Periode III | Mittel | In Periode II | also + oder − |
|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 . . | 2,43 | 3,57 | 3,00 | 2,49 | —0,51 |
| „ 2 . . | 3,88 | 2,87 | 3,38 | 2,42 | —0,96 |
| „ 3 . . | 2,95 | 4,14 | 3,54 | 3,04 | —0,50 |
| „ 6 . . | 1,75 | 3,59 | 2,67 | 1,77 | —0,90 |
| | | | | Mittel | —0,71 |

*Es hätte demnach der Harnstoff im Vergleich zu einem eiweißreichen Grundfutter zu einem geringen Stickstoffverlust geführt, der verständlich ist, weil, wie oben ausgeführt wurde, der Harnstoff zu einem gewissen Prozentsatz ohne Verwertung durch die Nieren ausgeschieden wurde. Dies ändert aber nichts an der Tatsache, daß der Harnstoff in einem bestimmten Umfange vom Organismus zur Produktion von Milch oder Körpersubstanz verwertet worden ist.*

**Periode IV: Große Harnstoffperiode.**

*Tabelle XIII.* Zusammensetzung der Ration der Periode IV (Harnstoff).

| | Trockensubstanz | Organische Substanz | Gesamt-N | Rohprotein | Verdauliches Rohprotein | Reineiweiß | Amidsubstanz | Rohfett | Rohfaser | N-freie Extraktstoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Ziege 1 und 6 | | | | | |
| Heu . . . 1000 g | 887,00 | 809,80 | 17,65 | 110,00 | 69,40 | 102,00 | 8,00 | 24,90 | 250,90 | 424,00 |
| Leinmehl . 150 g | 135,90 | 119,70 | 5,95 | 37,20 | 31,71 | 34,20 | 2,97 | 14,88 | 13,68 | 53,91 |
| Weizensch. 50 g | 44,45 | 41,64 | 0,99 | 6,16 | 5,43 | 6,13 | 0,03 | 1,47 | 10,50 | 23,98 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker 150—400 g Mittel *260* | 258,80 | 258,08 | — | — | — | — | — | — | — | 258,08 |
| Harnstoff . 25 g | 24,89 | 24,89 | 11,55 | 72,19 | 72,19 | — | 72,19 | — | — | — |
| | 1536,04 | 1432,09 | 39,66 | 247,53 | 198,71 | 164,31 | 83,19 | 46,73 | 295,58 | 889,99 |
| | | | | | Ziege 2 | | | | | |
| Heu . . . 800 g | 709,60 | 647,84 | 14,16 | 88,00 | 55,50 | 81,60 | 6,40 | 19,92 | 200,72 | 329,20 |
| Leinmehl . 300 g | 221,80 | 239,40 | 11,91 | 74,40 | 62,42 | 68,40 | 5,84 | 29,76 | 27,36 | 107,82 |
| Weizensch. 50 g | 44,45 | 41,64 | 0,99 | 6,16 | 5,43 | 6,13 | 0,03 | 1,47 | 10,50 | 23,98 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker, wie oben | 258,80 | 258,08 | — | — | — | — | — | — | — | 258,08 |
| Harnstoff . 25 g | 24,89 | 24,89 | 11,55 | 72,19 | 72,19 | — | 72,19 | — | — | — |
| | 1444,54 | 1389,83 | 42,13 | 262,73 | 215,52 | 178,11 | 84,46 | 56,63 | 257,08 | 849,00 |
| | | | | | Ziege 3 | | | | | |
| Heu . . . 1000 g | 887,00 | 809,80 | 17,65 | 110,00 | 69,40 | 102,00 | 8,00 | 24,90 | 250,90 | 424,00 |
| Leinmehl . 300 g | 221,80 | 239,40 | 11,91 | 74,40 | 62,42 | 68,40 | 5,84 | 29,76 | 227,36 | 107,82 |
| Weizensch. 50 g | 44,45 | 41,64 | 0,99 | 6,16 | 5,43 | 6,13 | 0,03 | 1,47 | 10,59 | 23,98 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker, wie oben | 258,80 | 258,08 | — | — | — | — | — | — | — | 258,08 |
| Harnstoff . 25 g | 24,89 | 24,89 | 11,55 | 72,19 | 72,19 | — | 72,19 | — | — | — |
| | 1621,94 | 1551,79 | 45,62 | 284,73 | 229,42 | 198,51 | 86,06 | 61,61 | 309,35 | 943,90 |
| | | | | | Ziege 4 und 5 | | | | | |
| Heu . . . 600 g | 532,20 | 485,88 | 10,59 | 66,00 | 41,64 | 61,20 | 4,8 | 14,94 | 150,54 | 254,40 |
| Leinmehl . 150 g | 135,90 | 119,70 | 5,95 | 37,20 | 31,71 | 34,20 | 2,97 | 14,88 | 13,68 | 53,91 |
| Weizensch. 50 g | 44,45 | 41,64 | 0,99 | 6,16 | 5,43 | 6,13 | 0,03 | 1,47 | 10,59 | 23,98 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker, wie oben | 258,80 | 258,08 | — | — | — | — | — | — | — | 258,08 |
| Harnstoff . 25 g | 24,89 | 24,89 | 11,55 | 72,19 | 72,19 | — | 72,19 | — | — | — |
| | 1181,24 | 1108,17 | 32,60 | 203,53 | 170,97 | 123,51 | 79,99 | 36,77 | 195,31 | 720,39 |

An die Grundfutterperiode schloß sich eine Harnstoffperiode mit einem stärkeren Ersatz des verdaulichen Gesamtstickstoffs an. Bekanntlich war die Verwertbarkeit des Harnstoffs in der zweiten Periode nicht quantitativ, ein Teil verließ den Organismus durch die Nieren. Es lag die Vermutung nahe, daß die Kohlehydratmenge nicht ausreichte, den Harnstoff in Bakterieneiweiß umzuwandeln. Es wurde daher versucht, durch steigende Gaben von Zucker dieser Frage näherzutreten. Es wurden ersetzt:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 100 g Hefe . . . . . . | = | 6,42 g | verdaulichen Gesamtstickstoffs |
| 150 g Weizenschalen . | = | 2,59 g | ,, ,, |
| 200 g Heu . . . . . . | = | 2,22 g | ,, ,, |
| zusammen | = | 11,23 g | verdaulichen Gesamtstickstoffs |

*Tabelle*

Periode IV. Erträge an Milch und

| Tag | Milchmenge | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | | 2 | |
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Mittel d. Periode III | **1207** | **1402** | **1902** | **1188** | **1151** | **1746** | **3,61** | **43,61** | **4,29** | **60,24** |
| 27. VIII. | 1050 | 1324 | 1780 | 1068 | 1013 | 1579 | 3,85 | 40,50 | 4,60 | 61,00 |
| 28. VIII. | 943 | 1248 | 1790 | 956 | 952 | 1531 | 4,05 | 38,25 | 4,70 | 58,55 |
| 29. VIII. | 987 | 1245 | 1779 | 1002 | 871 | 1428 | 4,05 | 40,00 | 4,40 | 54,96 |
| 30. VIII. | 975 | 1212 | 1834 | 992 | 950 | 1561 | 4,20 | 40,96 | 4,55 | 55,30 |
| 31. VIII. | 975 | 1295 | 1864 | 1092 | 975 | 1534 | 3,70 | 36,25 | 4,75 | 61,51 |
| 1. IX. | 937 | 1271 | 1705 | 919 | 937 | 1733 | 4,30 | 40,20 | 4,60 | 58,46 |
| 2. IX. | 934 | 1225 | 1816 | 1007 | 956 | 1626 | 4,15 | 38,75 | 4,75 | 58,21 |
| Mittel d. 1. Abschn. | **971** | **1260** | **1796** | **1005** | **951** | **1570** | **4,04** | **39,67** | **4,61** | **58,29** |
| 3. IX. | 975 | 1200 | 1712 | 1002 | 896 | 1616 | 4,00 | 39,00 | 4,85 | 58,30 |
| 4. IX. | 963 | 1246 | 1837 | 936 | 913 | 1618 | 3,60 | 34,75 | 4,65 | 58,00 |
| 5. IX. | 901 | 1146 | 1755 | 868 | 879 | 1494 | 3,80 | 34,24 | 4,60 | 52,80 |
| 6. IX. | 854 | 1167 | 1760 | 988 | 868 | 1519 | 4,20 | 35,80 | 4,90 | 57,20 |
| 7. IX. | 841 | 1101 | 1668 | 988 | 863 | 1558 | 3,85 | 32,50 | 4,95 | 53,60 |
| 8. IX. | 711 | 1085 | 1599 | 940 | 833 | 1528 | 4,20 | 29,85 | 5,00 | 54,25 |
| 9. IX. | 848 | 1084 | 1564 | 939 | 826 | 1572 | 4,40 | 37,10 | 5,15 | 55,92 |
| Mittel d. 2. Abschn. | **870** | **1147** | **1699** | **952** | **868** | **1559** | **4,00** | **34,75** | **4,87** | **55,72** |
| 10. IX. | 768 | 1141 | 1662 | 867 | 855 | 1546 | 4,50 | 34,50 | 5,05 | 57,85 |
| 11. IX. | 859 | 1122 | 1643 | 899 | 834 | 1479 | 3,85 | 33,00 | 5,15 | 57,85 |
| 12. IX. | 828 | 1048 | 1633 | 994 | 876 | 1582 | 4,05 | 33,46 | 5,25 | 55,00 |
| 13. IX. | 857 | 1084 | 1454 | 972 | 884 | 1452 | 3,90 | 33,45 | 4,85 | 52,60 |
| 14. IX. | 879 | 1044 | 1581 | 996 | 862 | 1490 | 3,60 | 32,52 | 4,90 | 51,26 |
| 15. IX. | 855 | 1272 | 1686 | 970 | 891 | 1662 | 3,70 | 32,52 | 4,45 | 56,68 |
| 16. IX. | 788 | 966 | 1686 | 971 | 897 | 1577 | 3,45 | 27,11 | 4,40 | 42,50 |
| Mittel d. 3. Abschn. | **833** | **1099** | **1621** | **953** | **871** | **1541** | **3,90** | **32,37** | **4,89** | **53,39** |
| 17. IX. | 856 | 1089 | 1694 | 1001 | 950 | 1660 | 3,90 | 33,44 | 4,50 | 49,05 |
| 18. IX. | 881 | 1189 | 1708 | 982 | 950 | 1574 | 3,60 | 32,66 | 4,40 | 52,36 |
| 19. IX. | 933 | 1065 | 1722 | 914 | 866 | 1558 | 3,95 | 36,85 | 4,25 | 45,40 |
| 20. IX. | 744 | 1031 | 1690 | 812 | 844 | 1465 | 4,10 | 30,54 | 4,75 | 49,00 |
| 21. IX. | 919 | 1167 | 1534 | 959 | 820 | 1493 | 3,75 | 34,45 | 4,40 | 51,40 |
| 22. IX. | 958 | 1089 | 1533 | 911 | 830 | 1509 | 4,15 | 39,55 | 4,40 | 57,93 |
| 23. IX. | 917 | 1192 | 1429 | 832 | 879 | 1626 | 3,50 | 33,00 | 3,85 | 46,00 |
| Mittel d. 4. Abschn. | **879** | **1119** | **1616** | **916** | **877** | **1555** | **3,85** | **34,36** | **4,39** | **50,16** |
| 24. IX. | 882 | 1041 | 1508 | 832 | 863 | 1577 | 4,05 | 35,75 | 4,20 | 43,75 |
| 25. IX. | 814 | 1043 | 1611 | 895 | 897 | 1491 | 4,15 | 33,75 | 4,40 | 45,98 |
| 26. IX. | 879 | 1108 | 1739 | 1066 | 904 | 1573 | 5,00 | 44,25 | 4,45 | 48,23 |
| 27. IX. | 791 | 1124 | 1741 | 1063 | 858 | 1664 | 4,85 | 38,50 | 4,40 | 49,50 |
| 28. IX. | 888 | 1145 | 1694 | 993 | 873 | 1576 | 4,95 | 44,00 | 3,70 | 42,30 |
| 29. IX. | 821 | 1043 | 1646 | 945 | 904 | 1594 | 4,60 | 37,75 | 3,95 | 41,45 |
| 30. IX. | 765 | 908 | 1683 | 769 | 876 | 1533 | 4,30 | 32,90 | 4,90 | 44,25 |
| Mittel d. 5. Abschn. | **835** | **1059** | **1659** | **923** | **882** | **1573** | **4,56** | **38,13** | **4,28** | **45,09** |
| Mittel d. Periode IV | **874** | **1136** | **1678** | **953** | **890** | **1559** | **4,06** | **35,77** | **4,60** | **52,52** |

*XIV.*

**Milchbestandteilen der Harnstoffperiode.**

| Fettgehalt | | | | | | | | Stall-temperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege | | | | | | | | |
| 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | |
| Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| **2,90** | **54,24** | **4,20** | **49,87** | **4,08** | **46,46** | **3,69** | **64,69** | **17½** |
| 3,30 | 58,83 | 4,40 | 47,00 | 4,40 | 44,65 | 3,75 | 59,20 | 16½ |
| 3,45 | 61,75 | 4,95 | 47,45 | 4,30 | 41,00 | 3,50 | 53,70 | 17 |
| 3,30 | 58,70 | 4,80 | 47,50 | 4,25 | 37,00 | 3,40 | 48,50 | 16½ |
| 3,20 | 58,75 | 4,80 | 47,75 | 4,40 | 41,80 | 3,65 | 57,15 | 17 |
| 3,10 | 57,80 | 4,30 | 44,25 | 5,10 | 48,00 | 3,40 | 52,23 | 18½ |
| 3,20 | 54,55 | 4,80 | 44,00 | 4,35 | 41,52 | 3,95 | 69,50 | 18½ |
| 3,30 | 60,00 | 5,10 | 51,50 | 4,45 | 42,50 | 3,45 | 56,05 | 18½ |
| **3,20** | **58,63** | **4,74** | **47,06** | **4,47** | **46,72** | **3,59** | **56,62** | |
| 3,15 | 54,00 | 5,05 | 50,75 | 3,95 | 35,45 | 3,45 | 55,73 | 18 |
| 3,20 | 58,85 | 4,50 | 42,00 | 4,00 | 36,52 | 3,70 | 59,92 | 17½ |
| 3,10 | 54,45 | 4,75 | 41,00 | 4,15 | 36,45 | 3,25 | 48,51 | 17 |
| 3,50 | 61,65 | 4,85 | 47,85 | 4,30 | 37,30 | 3,40 | 51,55 | 16½ |
| 2,95 | 49,23 | 4,65 | 46,00 | 4,25 | 36,32 | 3,75 | 47,60 | 15½ |
| 3,35 | 53,50 | 5,15 | 48,45 | 4,25 | 35,50 | 3,50 | 55,05 | 15 |
| 3,45 | 54,00 | 5,45 | 51,00 | 4,45 | 36,35 | 3,55 | 55,87 | 14½ |
| **3,24** | **55,09** | **4,91** | **46,72** | **4,19** | **36,29** | **3,58** | **53,46** | |
| 3,75 | 62,45 | 4,75 | 41,00 | 4,25 | 36,40 | 3,55 | 55,00 | 14 |
| 3,35 | 55,10 | 4,85 | 42,50 | 4,20 | 35,00 | 3,60 | 53,25 | 14 |
| 3,60 | 58,95 | 4,90 | 48,75 | 4,00 | 35,04 | 3,70 | 60,23 | 15½ |
| 3,35 | 48,72 | 4,90 | 47,50 | 3,85 | 34,00 | 3,55 | 51.70 | 15½ |
| 3,55 | 56,12 | 4,90 | 48,85 | 3,90 | 33,70 | 3,55 | 53,00 | 14½ |
| 3,10 | 52,43 | 4,45 | 44,10 | 3,75 | 33,50 | 3,20 | 53,30 | 14½ |
| 2,80 | 47,25 | 4,45 | 43,15 | 3,75 | 33,50 | 3,30 | 52,01 | 14 |
| **3,36** | **54,43** | **4,74** | **45,12** | **3,96** | **34,44** | **3,49** | **54,06** | |
| 3,30 | 55,96 | 4,75 | 47,55 | 3,35 | 31,75 | 3,25 | 54,00 | 14 |
| 3,10 | 53,00 | 4,75 | 46,60 | 3,40 | 32,30 | 3,35 | 51,31 | 14 |
| 3,00 | 51,66 | 4,70 | 43,00 | 4,05 | 35,00 | 3,65 | 56,90 | 13½ |
| 2,95 | 49,90 | 4,45 | 36,10 | 4,00 | 33,76 | 3,70 | 55,75 | 13½ |
| 3,25 | 49,90 | 4,80 | 45,75 | 4,55 | 37,25 | 3,80 | 56,75 | 13½ |
| 3,30 | 50,69 | 4,20 | 38,05 | 4,00 | 33,20 | 3,60 | 54,36 | 14½ |
| 3,15 | 45,01 | 4,40 | 36,55 | 4,20 | 36,73 | 3,50 | 57,00 | 14½ |
| **3,15** | **50,87** | **4,58** | **41,94** | **3,94** | **34,28** | **3,53** | **55,15** | |
| 3,25 | 49,00 | 5,45 | 45,00 | 4,15 | 36,85 | 3,35 | 52,90 | 13½ |
| 3,00 | 48,48 | 4,65 | 42,55 | 4,35 | 39,00 | 3,35 | 50,00 | 13 |
| 3,50 | 60,90 | 4,70 | 50,15 | 4,10 | 37,00 | 3,80 | 56,80 | 12 |
| 2,40 | 41,84 | 4,35 | 40,75 | 3,85 | 33,00 | 3,35 | 55,75 | 11½ |
| 2,40 | 40,75 | 4,40 | 43,70 | 3,85 | 33,60 | 3,30 | 52,00 | 13 |
| 2,65 | 45,25 | 4,35 | 41,00 | 3,85 | 34,95 | 3,35 | 53,50 | 13 |
| 3,05 | 51,49 | 5,50 | 42,05 | 3,70 | 32,35 | 3,35 | 51,25 | 13 |
| **2,89** | **48,24** | **4,71** | **43,60** | **3.96** | **35,25** | **3,39** | **53,17** | |
| **3,18** | **53,46** | **4,75** | **44,89** | **4,11** | **36,52** | **3,51** | **54,49** | **15** |

*Tabelle XIV*

**Periode IV. Erträge an Milch und**

| Tag | Trockensubstanz | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | | | | |
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
| | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Mittel d. Periode III | **12,42** | **149,9** | **13,42** | **188,5** | **11,96** | **227,5** | **13,11** | **155,8** | **12,76** | **147,1** |
| 27. VIII. | 12,61 | 132,6 | 13,48 | 178,8 | 12,71 | 226,3 | 13,81 | 147,6 | 13,32 | 135,2 |
| 28. VIII. | 12,78 | 120,9 | 13,65 | 170,0 | 12,55 | 224,8 | 14,12 | 134,2 | 13,03 | 124,1 |
| 29. VIII. | 12,89 | 127,0 | 13,60 | 157,0 | 12,47 | 221,5 | 14,09 | 142,1 | 13,28 | 115,5 |
| 30. VIII. | 12,70 | 123,6 | 13,66 | 165,8 | 12,02 | 220,4 | 13,75 | 136,2 | 13,11 | 124,0 |
| 31. VIII. | 12,40 | 118,1 | 13,70 | 177,5 | 12,23 | 228,1 | 14,03 | 144,5 | 13,07 | 124,1 |
| 1. IX. | 12,69 | 118,3 | 13,60 | 173,0 | 12,31 | 210,0 | 14,06 | 128,2 | 13,00 | 122,0 |
| 2. IX. | 12,93 | 121,0 | 14,01 | 171,6 | 12,35 | 222,2 | 14,29 | 144,0 | 13,15 | 125,5 |
| Mittel d. 1. Abschn. | **12,71** | **123,1** | **13,67** | **170,5** | **12,38** | **221,9** | **14,02** | **139,6** | **13,14** | **124,3** |
| 3. IX. | 12,71 | 133,8 | 14,00 | 168,0 | 12,22 | 209,9 | 13,95 | 140,1 | 12,59 | 112,1 |
| 4. IX. | 12,27 | 118,1 | 13,53 | 168,7 | 12,05 | 221,5 | 13,20 | 123,1 | 12,60 | 115,3 |
| 5. IX. | 12,43 | 112,7 | 13,68 | 157,0 | 12,18 | 223,6 | 14,07 | 121,9 | 12,95 | 113,5 |
| 6. IX. | 12,82 | 110,0 | 13,77 | 160,3 | 12,39 | 218,0 | 13,69 | 135,0 | 13,08 | 113,5 |
| 7. IX. | 12,99 | 109,0 | 14,13 | 156,0 | 12,25 | 204,0 | 13,96 | 137,7 | 13,06 | 113,0 |
| 8. IX. | 12,92 | 104,7 | 14,07 | 152,9 | 12,58 | 204,3 | 14,40 | 135,4 | 12,86 | 107,8 |
| 9. IX. | 12,93 | 109,8 | 14,13 | 153,4 | 12,56 | 196,8 | 14,48 | 135,8 | 13,09 | 107,9 |
| Mittel d. 2. Abschn. | **12,72** | **114,0** | **13,90** | **159,5** | **12,32** | **211,2** | **13,96** | **133,0** | **12,75** | **111,9** |
| 10. IX. | 13,67 | 105,0 | 14,14 | 161,8 | 13,01 | 216,5 | 14,39 | 124,0 | 13,46 | 115,0 |
| 11. IX. | 12,66 | 108,3 | 14,42 | 162,0 | 12,62 | 207,5 | 14,11 | 126,0 | 13,11 | 109,1 |
| 12. IX. | 12,97 | 106,9 | 14,54 | 152,5 | 12,68 | 207,0 | 14,36 | 142,3 | 12,92 | 113,0 |
| 13. IX. | 12,04 | 103,1 | 14,16 | 153,7 | 12,49 | 181,6 | 14,52 | 141,2 | 12,80 | 113,4 |
| 14. IX. | 12,74 | 106,2 | 14,07 | 147,0 | 12,50 | 197,6 | 14,20 | 141,8 | 12,75 | 110,0 |
| 15. IX. | 12,49 | 106,9 | 13,61 | 173,3 | 12,47 | 210,3 | 13,67 | 132,6 | 12,56 | 111,5 |
| 16. IX. | 12,64 | 99,5 | 13,81 | 133,6 | 12,06 | 203,0 | 13,98 | 135,9 | 12,39 | 110,2 |
| Mittel d. 3. Abschn. | **12,74** | **105,1** | **14,11** | **154,8** | **12,57** | **203,4** | **14,17** | **134,5** | **12,86** | **111,9** |
| 17. IX. | 12,81 | 109,6 | 12,83 | 150,7 | 12,51 | 212,1 | 14,18 | 142,0 | 12,12 | 115,2 |
| 18. IX. | 12,62 | 111,8 | 13,69 | 162,8 | 12,41 | 212,0 | 14,33 | 140,3 | 12,15 | 115,5 |
| 19. IX. | 12,79 | 119,0 | 13,52 | 144,3 | 12,04 | 208,0 | 14,41 | 132,0 | 12,98 | 112,0 |
| 20. IX. | 13,34 | 99,0 | 14,17 | 146,1 | 12,18 | 205,9 | 14,44 | 117,6 | 12,90 | 108,6 |
| 21. IX. | 12,66 | 116,2 | 13,65 | 159,5 | 12,52 | 192,1 | 14,29 | 136,0 | 13,53 | 110,3 |
| 22. IX. | 13,05 | 125,0 | 13,53 | 147,3 | 12,65 | 194,0 | 13,54 | 122,6 | 12,55 | 104,0 |
| 23. IX. | 12,46 | 114,6 | 13,21 | 158,0 | 12,47 | 178,2 | 14,17 | 117,8 | 12,94 | 113,4 |
| Mittel d. 4. Abschn. | **12,82** | **113,6** | **13,51** | **159,5** | **12,39** | **200,3** | **14,19** | **129,8** | **12,88** | **111,3** |
| 24. IX. | 13,08 | 115,6 | 13,43 | 140,0 | 12,49 | 188,0 | 15,44 | 127,9 | 13,09 | 113,0 |
| 25. IX. | 13,10 | 106,0 | 14,03 | 146,3 | 12,50 | 200,0 | 14,52 | 130,0 | 12,81 | 115,0 |
| 26. IX. | 14,03 | 124,2 | 13,89 | 153,5 | 12,70 | 221,0 | 13,95 | 148,8 | 12,84 | 116,0 |
| 27. IX. | 14,09 | 111,5 | 13,82 | 156,6 | 11,89 | 207,0 | 15,20 | 162,0 | 12,58 | 107,6 |
| 28. IX. | 14,22 | 126,2 | 13,01 | 149,0 | 11,66 | 197,9 | 13,53 | 134,0 | 12,58 | 109,8 |
| 29. IX. | 13,68 | 112,1 | 13,49 | 141,1 | 12,00 | 197,5 | 14,23 | 134,3 | 12,20 | 111,0 |
| 30. IX. | 13,32 | 102,0 | 14,49 | 131,0 | 12,44 | 209,6 | 15,43 | 118,2 | 12,45 | 109,0 |
| Mittel d. 5. Abschn. | **13,64** | **114,0** | **13,74** | **145,4** | **12,24** | **203,0** | **14,61** | **136,5** | **12,65** | **111,8** |
| Mittel d. Periode IV | **12,93** | **113,9** | **13,79** | **156,6** | **12,37** | **210,2** | **14,19** | **134,7** | **12,86** | **119,5** |

(Fortsetzung).

Milchbestandteilen der Harnstoffperiode.

| 6 | | Zucker | Körpergewicht | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Ziege | | | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| Proz. | g | g | kg | kg | kg | kg | kg | kg | Grad |
| **12,29** | **214,7** | | **41,47** | **39,07** | **40,00** | **38,78** | **36,47** | **35,48** | **17½** |
| 12,25 | 193,0 | 150 | 42,00 | 39,53 | 40,06 | 38,67 | 36,58 | 35,40 | 16½ |
| 11,95 | 183,1 | | 41,59 | 38,51 | 39,71 | 38,20 | 36,10 | 34,80 | 17 |
| 11,98 | 171,0 | | 41,55 | 38,52 | 38,77 | 38,40 | 35,48 | 34,92 | 16½ |
| 12,07 | 189,0 | | 40,91 | 38,56 | 39,70 | 38,00 | 35,80 | 34,66 | 17 |
| 11,99 | 183,6 | | 40,79 | 38,92 | 39,87 | 38,00 | 35,84 | 35,51 | 18½ |
| 12,45 | 216,0 | | 40,91 | 39,57 | 38,71 | 37,48 | 35,60 | 35,69 | 18½ |
| 11,67 | 189,9 | | 41,44 | 39,00 | 39,41 | 38,95 | 36,00 | 35,69 | 18½ |
| **12,05** | **186,5** | | **41,31** | **38,66** | **39,46** | **37,96** | **35,91** | **35,24** | |
| 11,95 | 193,5 | 200 | 41,59 | 39,21 | 39,86 | 38,63 | 35,81 | 35,60 | 18 |
| 11,82 | 191,2 | | 41,45 | 39,34 | 39,77 | 38,50 | 35,88 | 35,45 | 17½ |
| 11,92 | 178,4 | | 40,60 | 37,82 | 38,84 | 37,16 | 34,58 | 34,28 | 17 |
| 11,67 | 177,0 | | 40,45 | 37,65 | 38,73 | 37,00 | 34,60 | 34,57 | 16½ |
| 12,23 | 190,8 | | 39,67 | 37,69 | 38,59 | 38,00 | 35,50 | 33,97 | 15½ |
| 12,02 | 184,0 | | 40,08 | 38,27 | 38,27 | 37,37 | 35,10 | 34,30 | 15 |
| 12,09 | 190,0 | | 40,21 | 37,48 | 37,04 | 37,35 | 34,90 | 34,38 | 14½ |
| **11,96** | **186,4** | | **40,56** | **38,21** | **38,73** | **37,78** | **35,19** | **34,66** | |
| 12,28 | 190,0 | 250 | 40,34 | 37,67 | 37,46 | 37,12 | 34,90 | 34,56 | 14 |
| 12,11 | 179,0 | | 41,00 | 38,21 | 38,55 | 38,40 | 35,65 | 34,55 | 14 |
| 12,10 | 191,5 | | 41,00 | 38,25 | 38,31 | 37,85 | 35,76 | 35,18 | 15½ |
| 12,05 | 175,1 | | 41,00 | 38,51 | 38,82 | 37,53 | 35,80 | 35,37 | 15½ |
| 12,08 | 180,0 | | 40,89 | 37,28 | 38,20 | 36,64 | 35,41 | 35,16 | 14½ |
| 11,73 | 195,4 | | 40,73 | 38,82 | 38,75 | 37,38 | 35,90 | 35,79 | 14½ |
| 11,79 | 186,0 | | 40,75 | 39,00 | 38,71 | 37,29 | 35,85 | 35,40 | 14 |
| **12,02** | **185,3** | | **40,81** | **38,25** | **38,70** | **37,76** | **35,61** | **35,14** | |
| 11,76 | 195,2 | 300 | 41,25 | 38,94 | 39,00 | 37,00 | 36,00 | 35,77 | 14 |
| 11,83 | 186,2 | | 41,40 | 39,00 | 39,24 | 38,00 | 36,62 | 35,40 | 14 |
| 11,96 | 186,1 | | 41,74 | 38,68 | 38,90 | 38,00 | 36,29 | 34,81 | 13½ |
| 12,13 | 177,8 | | 41,00 | 38,33 | 38,90 | 37,04 | 34,74 | 34,26 | 13½ |
| 12,07 | 180,1 | | 41,30 | 38,07 | 38,20 | 37,50 | 35,47 | 34,43 | 13½ |
| 11,95 | 180,0 | | 41,62 | 39,40 | 38,78 | 37,41 | 35,11 | 35,45 | 14½ |
| 12,09 | 196,9 | | 41,40 | 38,80 | 38,37 | 36,18 | 34,60 | 35,61 | 14½ |
| **11,97** | **186,0** | | **41,34** | **38,74** | **38,75** | **37,30** | **35,57** | **35,10** | |
| 11,89 | 187,5 | 400 | 41,17 | 38,60 | 38,40 | 37,72 | 36,00 | 35,95 | 13½ |
| 11,78 | 176,0 | | 41,00 | 38,93 | 38,62 | 37,88 | 36,36 | 35,67 | 13 |
| 12,12 | 191,1 | | 40,73 | 38,60 | 38,79 | 37,70 | 35,86 | 35,64 | 12 |
| 11,89 | 198,0 | | 41,44 | 39,53 | 39,13 | 37,84 | 35,89 | 36,20 | 11½ |
| 11,54 | 182,0 | | 41,65 | 39,58 | 39,05 | 38,00 | 35,92 | 35,92 | 13 |
| 11,61 | 185,2 | | 41,74 | 39,18 | 39,22 | 37,26 | 36,18 | 36,00 | 13 |
| 11,91 | 182,5 | | 39,68 | 37,62 | 39,18 | 37,20 | 36,16 | 36,61 | 13 |
| **11,82** | **186,0** | | **41,06** | **38,86** | **38,91** | **37,66** | **36,05** | **35,98** | |
| **11,96** | **186,8** | | **41,02** | **38,54** | **38,91** | **37,68** | **35,66** | **35,22** | **15** |

durch 25 g Harnstoff = 11,55 g verdaulichen Gesamtstickstoffs und zum Ausgleich des Stärkewertes 150 bis 350 g Zucker. Die Zuckergaben wurden wöchentlich erhöht. Es wurde mit einem Stärkewert begonnen, der zunächst unter dem der Grundfutterperiode lag.

Die Ration setzte sich demgemäß folgendermaßen zusammen (siehe Tabelle XIII, S. 311).

Die Periode wurde auf 35 Tage ausgedehnt. Die Tiere soffen die Tränke, in der auch der Zucker aufgelöst war, zunächst begierig, in der letzten Woche aber, in welcher die Zuckergabe 400 g betrug, nahmen die Tiere die Tränke nur noch widerwillig auf, auch blieben größere Futterreste zurück, so daß die Periode schließlich abgebrochen werden mußte.

Die Erträge an Milch und deren Bestandteilen sind in Tabelle XIV, S. 312/313, abschnittsweise zusammengestellt.

*Wirkung auf Menge und Gehalt der Milch.*

1. *Milchmenge und Trockensubstanz.* Die Tiere reagierten auf die veränderte Fütterung in verschiedener Weise. Während bei den Ziegen 1, 2, 4 und 5 sich sofort ein starker Abfall in der Milcherzeugung eingestellt hat, ist bei Ziege 3 und 6 in der ersten Woche eine kleine Zunahme wahrzunehmen. Hier scheint die Nachwirkung der eiweißreicheren Grundfutterperiode vorzuwalten. Im zweiten Abschnitt sinkt dann die Milchmenge gleichmäßig bei allen Tieren. Die stärkere Zuckergabe, die mittlerweile auf 250 g erhöht worden ist, vermag die Depression bei den Ziegen 4 und 5 am Ende der dritten Woche aufzuhalten, bei 1, 2, 3 und 6 erst in der vierten Woche bei einer Menge von 300 g Zucker. Aus diesem Verhalten ist es möglich, Schlüsse zu ziehen, welche Menge an leichtlöslichen Kohlehydraten in Verbindung mit Harnstoff erforderlich sind, um eine Eiweißsynthese im Sinne der Bakterientheorie zu ermöglichen. Von der vierten Woche ab wurde die Depression zum Stillstand gebracht, als die Zuckergabe 250 g mehr betrug als in der vorangegangenen Grundfutterperiode. 25 g Harnstoff entsprechen zufolge ihres Stickstoffgehaltes 72,2 g Rohprotein. Theoretisch wären zum Eiweißaufbau durch Bakterien, wenn man den Energieverlust nicht berücksichtigt, 47,5 g leichtlösliche stickstofffreie Extraktstoffe erforderlich gewesen, da aber 250 g Zucker benötigt wurden, ist demnach ein bedeutender Energieverlust eingetreten.

2. *Fettgehalt.* Eine Steigerung des prozentigen Fettgehaltes ist unverkennbar. Die absoluten Fettzahlen bieten kein einheitliches Bild. Während bei den Ziegen 1 und 6 die Fettmenge in der dritten und vierten Periode wieder ansteigt, entsprechend der Zunahme der Gesamtmilchmenge, sinkt der Fettgehalt bei Ziege 2, 3, 4 und 5.

Der Gehalt an Rohprotein und Milchzucker ergibt sich aus der Gesamtanalyse.

Periode IV.

| | Menge | Mineralstoffe | Gesamtstickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1 . . | 874 | 0,830 | 0,538 | 4,70 | 3,36 | 29,37 | 4,06 | 35,77 | 4,68 | 40,90 |
| Ziege 2 . . | 1136 | 0,723 | 0,452 | 5,13 | 2,82 | 32,06 | 4,60 | 52,52 | 5,65 | 64,18 |
| Ziege 3 . . | 1678 | 0,737 | 0,593 | 9,95 | 3,70 | 62,18 | 3,18 | 53,46 | 4,75 | 79,70 |
| Ziege 4 . . | 953 | 0,731 | 0,547 | 5,21 | 3,41 | 32,56 | 4,75 | 44,89 | 5,29 | 50,41 |
| Ziege 5 . . | 890 | 0,910 | 0,548 | 4,88 | 3,42 | 30,50 | 4,11 | 36,52 | 4,42 | 39,34 |
| Ziege 6 . . | 1559 | 0,772 | 0,421 | 6,56 | 2,63 | 41,00 | 3,51 | 54,49 | 5,05 | 78,73 |

Das Rohprotein wurde nur in der Sammelmilch der ganzen Periode bestimmt, daher ist ein Vergleich der einzelnen Wochenabschnitte unter sich nicht möglich. Der prozentige Stickstoff hat abgenommen in demselben Maße, wie der Milchzucker zugenommen hat. Die absoluten Zahlen ergeben bei den Ziegen 1, 2 und 4 eine stärkere Abnahme als bei 3, 5 und 6.

*Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Über die Stoffwechselprodukte gibt Tabelle XV nähere Auskunft. 5 Tage entfielen auf die Vorperiode. Die Menge des Frischkotes nahm schon

*Tabelle XV.*

Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff.
Periode IV.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn-Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn-Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | | |
| Mittel der Periode III | 1567 | 663,3 | 6215 | 20,34 | 1622 | 686,5 | 5262 | 22,06 | |
| 27. VIII. | 1450 | 619,7 | 5770 | 24,47 | 1500 | 638,6 | 6630 | 27,95 | Vorperiode |
| 28. VIII. | 1370 | 581,3 | 6420 | 27,74 | 1385 | 627,0 | 4800 | 28,61 | |
| 29. VIII. | 1290 | 560,7 | 5280 | 25,20 | 1120 | 593,2 | 4590 | 29,39 | |
| 30. VIII. | 1260 | 535,8 | 7430 | 26,71 | 1058 | 535,7 | 5750 | 28,48 | |
| 31. VIII. | 1133 | 545,5 | 5727 | 25,04 | 1193 | 574,5 | 3920 | 28,94 | |
| 1. IX. | 1284 | 576,1 | 6180 | 25,87 | 1327 | 627,7 | 7380 | 30,12 | |
| 2. IX. | 1258 | 570,3 | 5950 | 27,11 | 1158 | 570,3 | 4760 | 28,26 | |
| 3. IX. | 1178 | 557,6 | 4840 | 24,31 | 1308 | 614,7 | 5000 | 28,02 | |
| 4. IX. | 1210 | 568,0 | 6785 | 25,38 | 1215 | 572,9 | 8400 | 28,16 | |
| 5. IX. | 1155 | 548,4 | 5080 | 26,86 | 1168 | 567,0 | 4630 | 29,99 | |
| 6. IX. | 1221 | 607,1 | 6450 | 25,41 | 1125 | 569,8 | 5500 | 28,96 | |
| 7. IX. | 808 | 420,7 | 5460 | 25,53 | 925 | 465,0 | 4000 | 28,00 | |
| 8. IX. | 1040 | 523,1 | 5370 | 25,05 | 1140 | 623,1 | 5250 | 28,42 | |
| 9. IX. | 1163 | 596,3 | 5410 | 25,20 | 1231 | 558,1 | 4790 | 26,96 | |
| 10. IX. | 1165 | 553,9 | 4900 | 25,40 | 1006 | 526,9 | 4900 | 26,43 | |
| 11. IX. | 998 | 482,5 | 6320 | 25,92 | 913 | 499,7 | 4750 | 26,87 | |
| 12. IX. | 1023 | 506,7 | 5425 | 24,67 | 843 | 442,9 | 4470 | 28,25 | |
| 13. IX. | 1118 | 567,7 | 6940 | 25,21 | 1163 | 503,8 | 6830 | 27,98 | |
| 14. IX. | 1187 | 564,0 | 5590 | 26,10 | 853 | 454,6 | 4700 | 26,57 | |
| 15. IX. | 983 | 494,1 | 5800 | 25,57 | 1178 | 663,8 | 3980 | 24,87 | |
| 16. IX. | 1010 | 506,7 | 7650 | 26,63 | 949 | 497,0 | 5400 | 24,00 | |
| 17. IX. | 1078 | 555,7 | 5495 | 25,28 | 1118 | 568,5 | 5860 | 25,64 | |
| 18. IX. | 1198 | 579,8 | 5870 | 24,92 | 1065 | 478,2 | 6000 | 26,62 | |
| 19. IX. | 1133 | 570,9 | 7420 | 25,04 | 933 | 484,3 | 5420 | 26,55 | |
| 20. IX. | 938 | 420,0 | 5490 | 25,82 | 746 | 395,0 | 5980 | 27,49 | |
| 21. IX. | 1193 | 526,9 | 6470 | 24,18 | 1165 | 619,5 | 4700 | 26,98 | |
| 22. IX. | 1188 | 586,2 | 6320 | 24,51 | 1115 | 559,0 | 5650 | 26,99 | |
| 23. IX. | 1168 | 546,1 | 7820 | 25,66 | 1193 | 558,6 | 5420 | 26,72 | |
| 24. IX. | 1090 | 521,1 | 6970 | 25,93 | 1133 | 520,9 | 5170 | 26,78 | |
| 25. IX. | 1240 | 564,2 | 7400 | 26,74 | 913 | 467,3 | 6400 | 26,17 | |
| 26. IX. | 1127 | 473,1 | 4910 | 25,04 | 872 | 452,2 | 5000 | 27,75 | |
| 27. IX. | 1282 | 531,3 | 4725 | 24,86 | 1180 | 588,3 | 4620 | 26,66 | |
| 28. IX. | 1465 | 587,0 | 5700 | 25,49 | 1048 | 500,4 | 4750 | 25,34 | |
| 29. IX. | 1308 | 535,0 | 5260 | 24,13 | 793 | 420,2 | 3460 | 25,20 | |
| 30. IX. | 1351 | 559,5 | 6180 | 24,18 | 748 | 400,3 | 3000 | 26,85 | |
| Mittel: | 1151 | 541,2 | 6006 | 25,40 | 1052 | 525,4 | 5189 | 27,12 | |



*Tabelle XV* (Fortsetzung).

**Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff.**

Periode IV.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | | |
| Mittel der Periode III | 1602 | 681,0 | 4324 | 20,77 | 1562 | 651,5 | 3597 | 19,70 | |
| 27. VIII. | 1395 | 621,2 | 4890 | 26,52 | 1301 | 559,0 | 3900 | 22,27 | Vorperiode |
| 28. VIII. | 1437 | 638,3 | 4550 | 27,84 | 1214 | 548,7 | 3380 | 22,24 | Vorperiode |
| 29. VIII. | 1340 | 637,1 | 3328 | 28,26 | 1239 | 574,1 | 3300 | 29,10 | Vorperiode |
| 30. VIII. | 1375 | 641,5 | 3400 | 23,58 | 1124 | 548,7 | 2400 | 23,79 | Vorperiode |
| 31. VIII. | 1306 | 596,7 | 4750 | 27,16 | 1364 | 630,3 | 2850 | 25,43 | Vorperiode |
| 1. IX. | 1220 | 557,6 | 3610 | 25,04 | 1131 | 537,0 | 2900 | 23,87 | |
| 2. IX. | 1282 | 589,7 | 3850 | 27,01 | 1367 | 661,0 | 2720 | 24,88 | |
| 3. IX. | 1209 | 563,9 | 3520 | 25,36 | 1085 | 554,3 | 3000 | 32,25 | |
| 4. IX. | 1255 | 527,0 | 4900 | 25,51 | 1137 | 584,4 | 3935 | 24,62 | |
| 5. IX. | 1335 | 636,5 | 3780 | 26,85 | 1105 | 563,4 | 3455 | 24,61 | |
| 6. IX. | 1160 | 557,7 | 3850 | 28,56 | 1177 | 595,5 | 4000 | 22,75 | |
| 7. IX. | 1284 | 582,4 | 4420 | 26,45 | 962 | 485,6 | 2820 | 22,49 | |
| 8. IX. | 1170 | 621,3 | 5350 | 26,37 | 1084 | 538,0 | 3660 | 22,65 | |
| 9. IX. | 955 | 496,4 | 4300 | 26,72 | 1062 | 522,2 | 4160 | 22,52 | |
| 10. IX. | 1111 | 540,6 | 3950 | 26,44 | 882 | 475,3 | 2850 | 25,85 | |
| 11. IX. | 1195 | 541,1 | 4120 | 25,77 | 1081 | 529,3 | 3760 | 22,71 | |
| 12. IX. | 1237 | 471,2 | 4820 | 25,69 | 922 | 453,9 | 1930 | 23,21 | |
| 13. IX. | 1240 | 540,5 | 4300 | 26,99 | 974 | 507,8 | 2470 | 23,79 | |
| 14. IX. | 995 | 519,8 | 4450 | 27,80 | 1098 | 496,5 | 2345 | 28,57 | |
| 15. IX. | 1235 | 871,1 | 4690 | 24,91 | 1102 | 541,9 | 2980 | 21,99 | |
| 16. IX. | 1016 | 412,6 | 4430 | 24,37 | 1192 | 538,4 | 2940 | 23,01 | |
| 17. IX. | 1165 | 552,4 | 3850 | 24,56 | 1192 | 549,0 | 2430 | 22,38 | |
| 18. IX. | 1142 | 576,8 | 4760 | 26,26 | 1127 | 638,8 | 4320 | 21,62 | |
| 19. IX. | 1118 | 551,2 | 3800 | 25,62 | 922 | 478,0 | 2680 | 27,81 | |
| 20. IX. | 1160 | 618,3 | 5630 | 26,87 | 842 | 490,6 | 2725 | 22,49 | |
| 21. IX. | 1169 | 615,9 | 4500 | 25,22 | 1002 | 497,8 | 3230 | 22,27 | |
| 22. IX. | 990 | 478,7 | 5250 | 26,31 | 1177 | 631,2 | 3310 | 25,73 | |
| 23. IX. | 1170 | 555,0 | Verlust | | 1135 | 560,8 | 3330 | 22,54 | |
| 24. IX. | 1297 | 563,6 | 5500 | 25,31 | 1118 | 545,9 | 2420 | 25,42 | |
| 25. IX. | 1235 | 588,9 | 5230 | 26,20 | 932 | 469,1 | 2480 | 24,41 | |
| 26. IX. | 1298 | 570,8 | 4800 | 26,58 | 1143 | 528,8 | 2900 | 24,12 | |
| 27. IX. | 1385 | 582,1 | 5150 | 24,84 | 1157 | 525,1 | 2640 | 25,80 | |
| 28. IX. | 1439 | 618,1 | 5380 | 25,65 | 847 | 439,5 | 2320 | 20,48 | |
| 29. IX. | 1172 | 504,7 | 5850 | 25,44 | 1112 | 534,8 | 2000 | 22,95 | |
| 30. IX. | 971 | 428,2 | 2800 | 26,30 | 943 | 496,1 | 1800 | 22,87 | |
| Mittel: | 1187 | 561,1 | 4311 | 25,10 | 1067 | 532,3 | 2957 | 24,13 | |

in den ersten Tagen ab, entsprechend der geringeren Menge an verfütterten Füllstoffen. Die Kotmenge war größeren Schwankungen unterworfen, die Harnmenge war nur bei den Ziegen 1 und 6 vermehrt. Der Harnstoffstickstoff zeigte schon am ersten Tage eine starke Zunahme, die noch einige Tage anhielt. Die Tiere hatten offenbar das Bestreben, sich des Harnstoffs auf dem schnellsten Wege zu entledigen. Ganz allmählich mit gesteigerter Zuckergabe sank dann die Gesamtstickstoffmenge des Harns, blieb aber am Ende der Periode noch um etwa 25 Proz. höher als in der voraufgegangenen Grundfutterperiode. Es wurde nur ein Teil des Harnstoffs und dann nur bei überreichlicher Zuckergabe vom Organismus verwertet.

Die Zusammensetzung des Kotes war folgende:

Periode IV.

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz | 97,11 | 525,60 | 95,81 | 486,21 | 95,62 | 536,52 | 95,79 | 509,90 |
| Asche | 11,65 | 61,23 | 12,88 | 62,67 | 12,07 | 64,75 | 10,98 | 55,88 |
| Organische Substanz | 85,46 | 449,18 | 82,93 | 403,21 | 83,55 | 448,24 | 84,81 | 431,68 |
| Gesamt-N | 1,71 | 8,99 | 1,85 | 8,99 | 1,87 | 10,03 | 1,70 | 8,65 |
| Rohprotein | 10,68 | 56,13 | 11,75 | 57,13 | 11,68 | 62,66 | 10,62 | 54,06 |
| Reineiweiß | 10,06 | 52,87 | 11,25 | 54,69 | 11,12 | 59,65 | 10,00 | 50,99 |
| Amide | 0,62 | 3,26 | 0,50 | 2,43 | 0,56 | 3,00 | 0,62 | 3,15 |
| Rohfett | 3,02 | 15,87 | 2,10 | 10,21 | 2,79 | 14,97 | 2,80 | 14,25 |
| Rohfaser | 26,42 | 138,86 | 27,50 | 133,71 | 28,54 | 153,12 | 27,07 | 137,78 |
| N-freie Extraktstoffe | 45,34 | 238,31 | 41,58 | 202,16 | 40,54 | 217,49 | 44,32 | 225,58 |
| Pepsinunlöslicher N | 1,11 | 6,79 | 1,14 | 5,54 | 1,16 | 6,21 | 1,13 | 5,75 |
| Pepsinunlösliches Rohprotein | 6,93 | 42,43 | 7,12 | 34,62 | 7,25 | 38,81 | 7,06 | 35,93 |

Die Kottrockensubstanz betrug bei Ziege 1: 47,02 Proz., bei Ziege 2: 49,94 Proz., bei Ziege 3: 47,27 Proz., bei Ziege 6: 50,63 Proz. in Prozenten des Frischkotes. Es zeigte sich wieder dieselbe Erscheinung wie in der ersten Harnstoffperiode, es wurde ein trockenerer Kot ausgeschieden. Über die Verwertung der Nährstoffe gibt Tabelle XVI, S. 320, Aufschluß.

Die Fütterung von Harnstoff hat auf die Verdaulichkeit des Rohproteins, des Rohfettes und der stickstofffreien Extraktstoffe einen günstigen Einfluß ausgeübt. Der Verdauungskoeffizient für Reineinweiß muß natürlich niedriger ausfallen als in der Grundfutterperiode, da ja ein großer Teil desselben durch Harnstoff ersetzt wurde. Bezüglich der Rohfaser ist eine Depression festzustellen, die der erheblichen Zuckerbeigabe zuzuschreiben ist, wie dies auch schon längst für die Ausnutzung des Wiesenheus bekannt ist[1]). Die bei einer Zuckerfütterung zu Heu neben der Rohfaserdepression gleichzeitig auftretende Herabdrückung der Ausnutzung der Proteinstoffe wurde durch die Harnstoffbeigabe aufgehoben, während der Harnstoff die geringere Ausnutzung der Rohfaser nicht bessern konnte im Gegensatz zu der sonst beobachteten depressionsbehebenden Wirkung stickstoffhaltiger Verbindungen nichteiweißartiger Natur[2]).

Um den Grad der Harnstoffverwertung kennenzulernen, führe ich dieselbe Berechnungsart wie in Periode II aus. Ziege I schied aus:

| | | |
|---|---|---|
| in Periode III | 20,24 g | Stickstoff |
| in Periode IV | 25,40 g | „ |
| mehr in Periode IV | 5,16 g | Stickstoff |
| weniger verdaut | 0,16 g | „ |

also im Harn mehr ausgeschieden in Periode IV: 5,32 g Stickstoff, d. h. von der zugeführten Menge von 11,55 g Stickstoff als Harnstoff haben 5,32 g

[1]) *F. Stohmann*, Zeitschr. f. Biol. **6**, 227, 1870; *F. Lehmann*, Landw. Jahrb. **25**, Erg.-Bd. 2, S. 117; *V. Hofmeister*, L. V. St. **6**, 191, 1864; *O. Kellner*, ebendaselbst **53**, 33, 1900.

[2]) *H. Weiske*, Zeitschr. f. Biol. **30**, 254, 1894; ebendaselbst *Kellner*, **39**, 354, 1900; *Völtz*, *Morgen*, *Honcamp*, a. a. O.



*Tabelle XVI.*
Verwertung der Nährstoffe in der IV. Periode.

| | Gesamt-N | Aus Gesamt-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach *Stutzer* | Amide | Roh-faser | Roh-fett | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein | Eiweiß | Roh-protein | Eiweiß | | | | | |
| | g | g | g | g | g | | g | g | g | g |
| **Ziege 1** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 39,65 | 247,52 | 164,30 | 247,52 | 164,30 | | 83,19 | 295,75 | 46,63 | 889,89 |
| Ab Rest. . | 0,09 | 0,56 | 0,51 | 0,56 | 0,51 | | 0,05 | 1,27 | 0,12 | 2,19 |
| | 39,56 | 245,96 | 163,79 | 246,96 | 163,79 | | 83,14 | 294,48 | 46,51 | 887,70 |
| Im Kot . . | 8,99 | 56,13 | 52,87 | 42,43 | 42,43 | | 3,26 | 138,86 | 15,87 | 238,31 |
| Verdaut . . | 30,57 | 190,83 | 110,92 | 204,53 | 121,36 | 198,45 | 79,88 | 155,62 | 30,64 | 649,39 |
| Verdauungs-koeffizient . | 77,3 | 77,3 | 67,7 | 82,8 | 74,1 | 80,4 | 96,0 | 52,84 | 65,9 | 73,2 |
| **Ziege 2** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 42,54 | 262,72 | 178,10 | 262,72 | 178,10 | | 84,46 | 259,25 | 56,63 | 849,60 |
| Ab Rest. . | 0,17 | 1,05 | 0,96 | 1,05 | 0,96 | | 0,09 | 2,40 | 0,24 | 4,12 |
| | 42,37 | 261,67 | 177,14 | 261,67 | 177,14 | | 84,37 | 256,85 | 56,39 | 844,88 |
| Im Kot . . | 8,99 | 57,13 | 54,69 | 34,62 | 34,62 | | 2,43 | 133,71 | 10,21 | 202,16 |
| Verdaut . . | 33,38 | 204,54 | 122,45 | 227,05 | 142,52 | 215,52 | 81,94 | 123,14 | 46,18 | 642,72 |
| Verdauungs-koeffizient . | 78,8 | 78,8 | 69,1 | 86,8 | 80,4 | 82,4 | 97,1 | 47,9 | 81,9 | 76,1 |
| **Ziege 3** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 45,64 | 284,73 | 198,51 | 284,73 | 198,51 | | 86,06 | 309,35 | 61,61 | 943,85 |
| Ab Rest. . | 1,04 | 6,91 | 5,83 | 6,91 | 5,83 | | 0,58 | 14,57 | 1,45 | 25,06 |
| | 44,60 | 277,82 | 192,68 | 277,82 | 192,68 | | 85,48 | 294,78 | 60,16 | 918,79 |
| Im Kot . . | 10,03 | 62,66 | 59,65 | 38,81 | 38,81 | | 3,00 | 153,22 | 14,97 | 217,49 |
| Verdaut . . | 34,57 | 215,16 | 133,03 | 239,01 | 153,87 | 229,01 | 82,48 | 141,66 | 45,19 | 701,30 |
| Verdauungs-koeffizient . | 77,5 | 77,5 | 69,0 | 86,0 | 79,9 | 82,4 | 96,4 | 48,0 | 75,1 | 76,3 |
| **Ziege 6** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 39,65 | 247,52 | 164,3 | 247,52 | 164,3 | | 83,19 | 295,75 | 46,63 | 889,89 |
| Im Kot . . | 8,65 | 54,06 | 50,99 | 35,93 | 35,93 | | 3,15 | 137,78 | 14,25 | 225,58 |
| Verdaut . . | 31,00 | 193,46 | 113,31 | 211,59 | 128,37 | 198,70 | 80,04 | 157,97 | 32,38 | 664,31 |
| Verdauungs-koeffizient . | 78,2 | 78,2 | 68,9 | 85,5 | 78,2 | 80,3 | 96,2 | 53,4 | 69,4 | 74,6 |

den Organismus durch die Nieren verlassen, der Harnstoffstickstoff wurde mithin nur zu 53,3 Proz. verwertet. Obschon Ziege 2 2,42 g Stickstoff weniger im Futter erhielt als in der vorangegangenen Grundfutterperiode, schied sie 3,26 g Stickstoff weniger im Kot aus; sie verdaute also den Futterstickstoff um 0,84 g besser als in der Grundfutterperiode, demnach wurden durch den Harn nur 5,06 — 0,84 g = 4,22 g Stickstoff mehr ausgeschieden als in Periode III, die Harnstoffverwertung beträgt 62,8 Proz. Worauf die bessere Ausnutzung des Stickstoffs bei diesem Tier zurückzuführen ist, ist schwer zu sagen. Bei Ziege 3 ergibt sich eine Mehrausscheidung von 5,24 g N = 53,74 Proz., bei Ziege 6 eine solche von 4,75 g N = 58,15 Proz. Verwertung. Die Harnstoffausnutzung betrug demnach im Mittel aller Ziegen bei einer Verfütterung von 25 g nur 56,67 Proz. oder 73 Proz. der Verwertung bei einer Gabe von 16 g Harnstoff.

Die Stickstoffbilanzen lauten folgendermaßen:

Stickstoffbilanzen der Periode IV.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter | 39,56 | 42,37 | 44,60 | 39,65 |
| N im Kot | 8,99 | 8,99 | 10,03 | 8,65 |
| Verdaut | 30,57 | 33,38 | 34,53 | 31,00 |
| Davon im Harn | 25,40 | 27,12 | 25,10 | 24,13 |
| in der Milch | 4,70 | 5,13 | 9,95 | 6,56 |
| Summe | 30,10 | 32,25 | 35,03 | 30,69 |
| Ansatz | 0,47 | 1,13 | Verlust — 0,52 | 0,31 |
| Gewichtsabnahme je Tag | 13 g | 15 g | 31 g | 7 g |

Zum ersten Male tritt bei Ziege 3 eine negative Bilanz auf, bei den übrigen Ziegen ist ein geringer Stickstoffgewinn wahrzunehmen. Ob die positiven Bilanzen in Wirklichkeit einen Stickstoffansatz im Vergleich zur Grundfutterperiode darstellen, wird erst zu erkennen sein, wenn das Resultat der unmittelbar folgenden Grundfutterperiode vorliegt.

Über den Gehalt an Stärkewert wie über das Eiweißverhältnis gibt die nachstehende Tabelle Auskunft:

| | Gewicht kg | Fett kg | Rohfaser kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohprotein kg | Eiweiß kg | Amide kg | Stärkewert kg | Eiweißverhältnis aus Gesamt-N | Milchertrag je 1000 kg kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 41,02 | 0,74 | 3,79 | 13,17 | 5,00 | **2,70** | 2,30 | **16,07** | 1 : 6,28 | 21,3 |
| Nach 7 Tagen | | | | | | | | **17,00** | | |
| „ 14 „ | | | | | | | | **17,93** | | |
| „ 21 „ | | | | | | | | **18,86** | | |
| „ 28 „ | | | | | | | | **20,72** | | |
| Ziege 2 | 38,54 | 1,19 | 3,19 | 13,84 | 5,68 | **3,17** | 2,51 | **19,36** | 1 : 5,31 | 29,5 |
| Nach 7 Tagen | | | | | | | | **20,35** | | |
| „ 14 „ | | | | | | | | **21,34** | | |
| „ 21 „ | | | | | | | | **22,33** | | |
| „ 28 „ | | | | | | | | **24,31** | | |
| Ziege 3 | 38,91 | 1,16 | 3,63 | 15,22 | 5,91 | **3,41** | 2,50 | **19,76** | 1 : 5,41 | 43,1 |
| Nach 7 Tagen | | | | | | | | **20,74** | | |
| „ 14 „ | | | | | | | | **21,72** | | |
| „ 21 „ | | | | | | | | **22,70** | | |
| „ 28 „ | | | | | | | | **24,66** | | |
| Ziege 6 | 35,22 | 0,92 | 4,48 | 15,76 | 5,90 | **3,21** | 2,69 | **19,83** | 1 : 6,11 | 44,3 |
| Nach 7 Tagen | | | | | | | | **20,91** | | |
| „ 14 „ | | | | | | | | **21,99** | | |
| „ 21 „ | | | | | | | | **23,07** | | |
| „ 28 „ | | | | | | | | **25,23** | | |
| | | | | | | | | | Mittel | 34,5 |

Der Stärkewert war bei unverändertem Rohproteingehalt zu Beginn der Periode geringer, dafür wurden aber an Stelle der schwer verdaulichen Rohfaser leichter lösliche Kohlehydrate gegeben. Später wurden die Werte der Grundfutterperiode überholt. Das Rohnährstoffverhältnis betrug im





Mittel zu Beginn 1 : 3,64 und erweiterte sich am Ende der Periode auf 1 : 4,61, erreichte also den Stand der Grundfutterperiode. Das Reineiweißverhältnis ergab zu Beginn 1 : 6,5, am Ende der Periode 1 : 8,33. Wenn man die Amide den Eiweißstoffen zuzählen will — setzt man also das Rohnährstoffverhältnis ein —, so hätte die Wirkung auf den Milchertrag im Vergleich zur Grundfutterperiode, deren Eiweißverhältnis 1 : 4,66 betrug, günstiger ausfallen müssen. Läßt man aber die Amide im Eiweißverhältnis unberücksichtigt, so erweitert sich dieses auf das Doppelte; *es geht aus dem erzielten Minderertrag hervor, daß das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß das Futtereiweiß nicht vollwertig zu ersetzen vermag.* Ein genaues Urteil kann die Betrachtung der für die Milch verfügbaren Stickstoffmenge geben. Über die Beteiligung des Harnstoffs an der Milchbildung gibt die Tabelle S. 322 Auskunft.

Der Berechnung ist die prozentige Verwertung des für die Milch verfügbaren Stickstoffs der vorangegangenen Grundfutterperiode III zugrunde gelegt.

Ziege 1 verwertete den Stickstoff der Grundfutterperiode für die Milch zu 32,08 Proz., daraus berechnet sich der Stickstoffbedarf in Periode IV zu 14,65 Proz.; für die Milchbildung standen 14,02 g zur Verfügung, mithin wurden durch 25 g Harnstoff 0,63 g Stickstoff als Milcheiweiß ersetzt. Für alle Ziegen ergeben sich folgende Zahlen:

| | Bedarf an N | Zur Verfügung | Ersetzt durch 25 g Harnstoff |
|---|---|---|---|
| Ziege 1 . . . . . . . . | 14,65 | 14,02 | 0,63 |
| „ 2 . . . . . . . . | 16,08 | 15,49 | 0,59 |
| „ 3 . . . . . . . . | 24,06 | 18,59 | 5,47 |
| „ 6 . . . . . . . . | 18,26 | 15,02 | 3,26 |

im Mittel der vier Tiere 2,44 g N = 15,25 g Eiweiß.

In der Milch wurden im Mittel 41,1 g Rohprotein ausgeschieden, so daß die Beteiligung des Harnstoffs am Milcheiweiß sich zu 37,2 Proz. berechnet.

Die Zahlen sind nicht eindeutig genug, um über die Verwertung des Harnstoffs abschließend zu urteilen. Es stehen sich die Zahlen bei Ziege 1 und 2 mit einer geringeren Verarbeitung einer höheren Verwertung bei Ziege 3 und 6 gegenüber. Wählt man die Mittelzahlen, so ergibt sich, daß die Verwertung des Harnstoffs bei einer stärkeren Gabe geringer ist als bei einer schwächeren Dosierung. Der Harnstoff scheint ein Fremdkörper zu sein, dessen sich die Tiere, besonders die empfindsamen Ziegen, je nach Veranlagung so schnell wie möglich zu entledigen trachten.

Die Körpergewichtsabnahme gegen die vorangegangene Grundfutterperiode ist bei allen Tieren gering. Sie betrug bei den einzelnen Tieren je Tag: Ziege 1: 12 g, Ziege 2: 15 g, Ziege 3: 31 g, Ziege 4: 31 g, Ziege 5: 23 g, Ziege 6: 7 g. Diesen Zahlen steht eine geringere Wasserausscheidung durch den Kot (der Kot fühlte sich beim Kneten besonders zähe im Vergleich zur Grundfutterperiode III an) entgegen.

**Periode V: Grundfutterperiode.**

An die Harnstoffperiode schloß sich eine 16tägige Grundfutterperiode an, in der dasselbe Futter gereicht wurde wie in Periode I. Die Freßlust hatte etwas nachgelassen, die Tiere ließen größere Heureste, die auf den Tag 19 bis 68 g betrugen, zurück.

Die Erträge an Milch und Milchbestandteilen sind in der Tabelle XVII, S. 323, zusammengestellt.

*Tabelle XVII.*

Periode V. Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode.

| Tag | Milchmenge Ziege 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Fettgehalt Ziege 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| Mittel der Periode IV | **874** | **1186** | **1678** | **958** | **890** | **1559** | **4,06** | **35,77** | **4,60** | **52,52** | **3,18** | **53,46** | **4,75** | **44,89** | **4,11** | **36,52** | **3,51** | **54,49** | 15 |
| 1. X. | 809 | 1184 | 1756 | 870 | 899 | 1603 | 4,00 | 32,86 | 4,70 | 55,65 | 2,95 | 51,75 | 5,70 | 49,55 | 3,65 | 32,70 | 3,45 | 55,45 | 12 1/2 |
| 2. X. | 781 | 1217 | 1759 | 814 | 856 | 1443 | 4,30 | 34,50 | 5,05 | 61,49 | 3,00 | 52,77 | 5,10 | 41,50 | 4,35 | 37,25 | 3,75 | 54,30 | 13 |
| 3. X. | 781 | 1210 | 1693 | 1051 | 867 | 1457 | 4,50 | 35,20 | 5,60 | 67,80 | 3,20 | 54,35 | 5,15 | 54,20 | 4,45 | 38,50 | 4,00 | 58,28 | 14 |
| 4. X. | 794 | 1190 | 1735 | 969 | 1065 | 1600 | 5,00 | 39,70 | 5,30 | 63,15 | 3,60 | 62,50 | 6,05 | 58,50 | 5,40 | 58,50 | 4,40 | 70,49 | 14 |
| 5. X. | 841 | 1180 | 1733 | 1256 | 692 | 1506 | 4,60 | 39,65 | 6,05 | 71,50 | 3,40 | 59,00 | 5,00 | 62,80 | 5,00 | 34,60 | 4,50 | 67,70 | 14 1/2 |
| 6. X. | 799 | 1247 | 1730 | 1116 | 811 | 1506 | 4,70 | 37,50 | 6,15 | 76,50 | 3,60 | 62,20 | 5,00 | 55,30 | 5,35 | 43,40 | 4,55 | 68,50 | 15 |
| 7. X. | 751 | 1202 | 1610 | 1314 | 894 | 1514 | 4,30 | 32,40 | 5,40 | 65,00 | 3,40 | 54,80 | 4,65 | 60,90 | 4,50 | 40,10 | 4,50 | 68,00 | 14 1/2 |
| 8. X. | 776 | 1191 | 1609 | 1113 | 891 | 1417 | 4,70 | 35,40 | 5,85 | 69,40 | 3,45 | 55,50 | 5,00 | 55,50 | 4,70 | 42,90 | 4,65 | 65,80 | 14 1/2 |
| Mittel des 1. Abschn. | **791** | **1208** | **1708** | **1063** | **872** | **1508** | | **3590** | | **66,81** | | **56,60** | | **54,78** | | **40,99** | | **64,81** | |
| 9. X. | 803 | 1205 | 1618 | 1231 | 894 | 1462 | 4,25 | 34,00 | 5,75 | 69,20 | 3,80 | 61,30 | 5,00 | 61,50 | 4,20 | 37,50 | 4,45 | 65,10 | 14 1/2 |
| 10. X. | 953 | 1180 | 1571 | 1198 | 870 | 1471 | 4,30 | 42,00 | 6,00 | 70,90 | 3,85 | 60,00 | 5,00 | 59,90 | 4,30 | 37,30 | 4,80 | 70,00 | 16 |
| 11. X. | 802 | 1228 | 1604 | 1158 | 786 | 1266 | 4,65 | 37,30 | 5,95 | 73,00 | 3,90 | 62,60 | 4,95 | 57,40 | 4,40 | 34,50 | 4,65 | 58,90 | 15 1/2 |
| 12. X. | 821 | 1169 | 1570 | 1252 | 764 | 1290 | 4,30 | 35,40 | 5,70 | 66,60 | 3,85 | 60,50 | 5,60 | 70,20 | 4,70 | 35,90 | 4,75 | 61,30 | 16 1/2 |
| 13. X. | 873 | 1204 | 1535 | 1237 | 881 | 1360 | 4,25 | 37,00 | 5,40 | 75,00 | 3,75 | 57,60 | 5,35 | 65,10 | 4,75 | 42,80 | 4,50 | 61,20 | 16 |
| 14. X. | 942 | 1205 | 1690 | 1325 | 1035 | 1465 | 4,20 | 39,60 | 5,80 | 69,90 | 3,80 | 64,30 | 5,70 | 75,50 | 4,60 | 47,60 | 4,50 | 65,90 | 15 |
| 15. X. | 865 | 1175 | 1691 | 1304 | 966 | 1445 | 4,25 | 36,60 | 5,60 | 65,70 | 3,60 | 61,00 | 5,00 | 65,20 | 4,30 | 41,50 | 4,30 | 62,10 | 14 |
| 16. X. | 942 | 1169 | 1719 | 1105 | 999 | 1510 | 4,15 | 39,00 | 5,40 | 63,10 | 3,95 | 67,90 | 4,75 | 52,50 | 3,65 | 36,50 | 4,20 | 63,40 | 14 1/2 |
| Mittel des 2. Abschn. | **875** | **1192** | **1625** | **1226** | **899** | **1409** | | **37,61** | | **69,18** | | **61,90** | | **63,40** | | **39,20** | | **63,49** | |
| Mittel der Periode V | **833** | **1197** | **1664** | **1144** | **886** | **1458** | **4,40** | **36,76** | **5,61** | **67,74** | **3,57** | **59,26** | **5,19** | **59,10** | **4,52** | **40,10** | **4,37** | **64,15** | 14,4 |

*Tabelle XVII* (Fortsetzung).

Periode V. Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode.

| Tag | Trockensubstanz | | | | | | | | | | | | Körpergewicht | | | | | | Stall-temperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | | | | | | | Ziege | | | | | | |
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | kg | kg | kg | kg | kg | kg | Grad |
| Mittel der Periode IV | **12,93** | **118,9** | **13,79** | **156,6** | **12,87** | **210,2** | **14,19** | **184,7** | **12,86** | **119,5** | **11,96** | **186,8** | **41,02** | **38,54** | **38,91** | **37,68** | **35,66** | **35,22** | 15 |
| 1. X. | 13,07 | 105,0 | 13,80 | 163,5 | 12,37 | 217,1 | 15,35 | 143,5 | 12,56 | 112,1 | 11,78 | 189,0 | 41,89 | 38,47 | 38,67 | 37,21 | 36,35 | 36,00 | 12½ |
| 2. X. | 13,46 | 105,3 | 14,28 | 173,2 | 12,17 | 213,5 | 14,56 | 118,2 | 13,08 | 112,0 | 12,44 | 180,0 | 42,33 | 39,35 | 39,66 | 38,77 | 36,81 | 36,78 | 13 |
| 3. X. | 13,58 | 106,0 | 13,03 | 158,0 | 12,94 | 219,8 | 15,12 | 159,0 | 13,45 | 116,2 | 12,99 | 189,0 | 42,26 | 39,78 | 39,80 | 38,00 | 36,65 | 35,38 | 14 |
| 4. X. | 14,15 | 114,4 | 14,95 | 178,0 | 13,33 | 232,0 | 15,59 | 151,9 | 14,44 | 154,0 | 13,14 | 211,5 | 43,32 | 39,90 | 40,12 | 38,60 | 36,58 | 36,65 | 14 |
| 5. X. | 13,83 | 116,3 | 15,39 | 181,9 | 12,88 | 221,6 | 14,58 | 183,0 | 13,90 | 96,0 | 13,14 | 198,0 | 43,00 | 40,07 | 40,45 | 39,67 | 37,76 | 36,53 | 14½ |
| 6. X. | 13,81 | 110,0 | 15,44 | 192,5 | 12,91 | 223,8 | 14,29 | 159,1 | 14,09 | 114,0 | 13,51 | 203,8 | 42,68 | 40,74 | 40,13 | 39,80 | 36,00 | 36,71 | 15 |
| 7. X. | 13,37 | 100,1 | 14,82 | 178,5 | 12,82 | 206,5 | 13,86 | 182,5 | 13,43 | 122,0 | 13,44 | 204,0 | 42,47 | 41,42 | 39,67 | 39,54 | 36,37 | 36,40 | 14½ |
| 8. X. | 13,87 | 107,2 | 15,43 | 184,0 | 13,14 | 211,5 | 14,40 | 160,5 | 13,59 | 121,0 | 13,40 | 190,0 | 42,22 | 40,64 | 39,68 | 38,58 | 36,46 | 36,17 | 14½ |
| Mittel des 1. Abschn. | | **108,0** | | **178,2** | | **218,2** | | **157,2** | | **118,4** | | **194,5** | | | | | | | |
| 9. X. | 13,48 | 108,1 | 15,36 | 185,1 | 13,42 | 217,2 | 15,13 | 186,8 | 13,03 | 116,3 | 13,06 | 191,0 | 42,40 | 40,61 | 39,94 | 40,59 | 36,00 | 36,07 | 14½ |
| 10. X. | 13,63 | 130,0 | 15,19 | 179,1 | 13,33 | 210,0 | 14,42 | 173,0 | 13,02 | 113,6 | 13,54 | 199,5 | 42,00 | 40,57 | 39,30 | 37,55 | 35,29 | 36,25 | 16 |
| 11. X. | 13,94 | 111,8 | 15,37 | 188,5 | 13,33 | 214,1 | 14,28 | 165,6 | 13,10 | 102,0 | 13,46 | 170,5 | 41,44 | 40,68 | 40,00 | 38,21 | 34,67 | 36,70 | 15½ |
| 12. X. | 13,47 | 110,0 | 14,97 | 147,5 | 13,30 | 208,5 | 14,78 | 185,1 | 13,45 | 103,1 | 13,61 | 175,9 | 42,00 | 40,31 | 39,42 | 39,88 | 34,63 | 36,62 | 16½ |
| 13. X. | 13,52 | 117,8 | 14,86 | 178,9 | 13,27 | 203,5 | 14,53 | 179,8 | 13,71 | 121,0 | 13,40 | 182,1 | 42,72 | 40,54 | 39,32 | 39,64 | 35,65 | 36,62 | 16 |
| 14. X. | 13,40 | 126,1 | 15,06 | 181,6 | 13,08 | 220,9 | 14 97 | 198,5 | 13,22 | 137,0 | 13,18 | 193,0 | 43,66 | 40,50 | 40,52 | 39,68 | 36,60 | 38,00 | 15 |
| 15. X. | 13,44 | 116,2 | 14,87 | 175,0 | 13,00 | 220,0 | 14,09 | 184,0 | 13,09 | 126,6 | 13,45 | 194,1 | 43,44 | 41,00 | 39,88 | 39,24 | 36,42 | 37,75 | 14 |
| 16. X. | 13,35 | 126,0 | 14,80 | 173,0 | 13,40 | 230,5 | 13,64 | 151,0 | 12,09 | 120,5 | 13,19 | 199,0 | 42,67 | 41,18 | 40,00 | 39,35 | 36,48 | 37,50 | 14½ |
| **Mittel des 2. Abschn.** | | **118,2** | | **175,8** | | **215,6** | | **177,9** | | **117,5** | | **188,1** | | | | | | | |
| **Mittel der Periode V** | **13,59** | **118,1** | **14,85** | **175,8** | **13,05** | **217,0** | **14,60** | **167,7** | **13,32** | **117,2** | **13,17** | **192,0** | **42,50** | **40,30** | **39,79** | **39,02** | **36,17** | **36,68** | 14,4 |

*Wirkung auf Menge und Gehalt der Milch.*

1. *Milchmenge und Trockensubstanz.* Die Wirkung des Grundfutters machte sich fast überall im Ansteigen der Milchmenge geltend, ein Beweis, daß die Grundfutterrationen von Beginn an ausreichend aber nicht zu hoch bemessen waren. Ziege 1 litt noch im ersten Abschnitt unter der Nachwirkung des Harnstoffs, die Milchmenge nahm erst in der zweiten Hälfte zu und erreichte die Mittelzahl der vorangegangenen Harnstoffperioden. Es wäre vielleicht besser gewesen, bei diesem Tier wie bei den anderen, die eine steigende Tendenz in der Milchabsonderung zeigen, den ersten Abschnitt von der Berechnung auszuschalten, wenn nicht bei Ziege 3 und 6 die Milchmenge abschnittsweise weiter gesunken wäre.

2. *Fettgehalt.* Das gleiche gilt für die Fettmenge. Bei Ziege 2 stiegen die prozentigen Zahlen sogar um 1 Proz. an. Die Harnstoffwirkung zeigt sich nach dem oben Gesagten in einem ungünstigen Lichte.

Der Gehalt an Rohprotein und Milchzucker ergibt sich aus der Gesamtanalyse.

| | Menge | Mineralstoffe | Ges.-Stickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1 . | 833 | 0,806 | 0,611 | 5,11 | 3,81 | 31,93 | 4,40 | 36,76 | 4,57 | 38,07 |
| „ 2 . | 1197 | 0,873 | 0,604 | 7,23 | 3,77 | 45,18 | 5,61 | 67,63 | 4,60 | 55,06 |
| „ 3 . | 1664 | 0,793 | 0,604 | 10,05 | 3,77 | 62,81 | 3,57 | 59,26 | 4,92 | 81,87 |
| „ 4 . | 1144 | 0,938 | 0,628 | 7,18 | 3,92 | 44,87 | 5,19 | 59,10 | 4,55 | 52,05 |
| „ 5 . | 886 | 0,858 | 0,549 | 4,86 | 3,43 | 30,38 | 4,52 | 40,10 | 4,51 | 39,96 |
| „ 6 . | 1456 | 0,801 | 0,499 | 7,27 | 3,11 | 45,44 | 4,37 | 63,94 | 4,89 | 71,30 |

Der prozentige wie absolute Rohproteingehalt hat bei allen Tieren zugenommen, während die Milchzuckermenge auf Kosten des Rohproteins abgenommen hat.

*Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Die Stoffwechselprodukte sind in Tabelle XVIII, S. 326, zusammengestellt. Es sind hierüber nur wenige Worte zu verlieren. Bemerkenswert ist das sofortige Sinken des Harnstickstoffs mit dem Tage des Einsetzens der neuen Periode. Der Harn zeigte wieder den normalen Stickstoffgehalt.

Untersuchung des lufttrockenen Kotes.

Periode V.

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz . | 96,75 | 574,80 | 97,54 | 620,60 | 96,42 | 653,80 | 96,54 | 600,10 |
| Asche . . . . . . . | 12,20 | 70,12 | 12,22 | 75,83 | 11,84 | 77,40 | 11,78 | 70,69 |
| Organ. Substanz . | 84,55 | 485,99 | 85,32 | 529,49 | 84,58 | 552,90 | 84,76 | 508,64 |
| Gesamt-N . . . . . | 1,75 | 10,05 | 1,90 | 11,79 | 1,84 | 12,02 | 1,73 | 10,38 |
| Rohprotein . . . . | 10,93 | 62,82 | 11,87 | 73,66 | 11,50 | 75,18 | 10,81 | 64,87 |
| Reineiweiß . . . . | 10,06 | 57,82 | 10,81 | 67,08 | 10,81 | 70,67 | 10,31 | 61,87 |
| Amide . . . . . . | 0,87 | 5,00 | 1,06 | 6,58 | 1,84 | 12,02 | 0,50 | 3,00 |
| Rohfett . . . . . . | 3,32 | 19,08 | 2,99 | 18,55 | 2,37 | 15,49 | 2,33 | 13,98 |
| Rohfaser . . . . . | 27,19 | 156,28 | 26,64 | 165,32 | 27,58 | 180,32 | 26,10 | 156,62 |
| N-freie Extraktstoffe . . . . . . | 42,91 | 246,64 | 43,82 | 271,95 | 43,13 | 281,98 | 44,52 | 267,16 |
| Pepsinunlösl. N . . | 1,13 | 6,49 | 1,16 | 7,20 | 1,26 | 8,25 | 1,16 | 6,96 |
| Pepsinunlösliches Rohprotein . . . | 7,06 | 40,56 | 7,26 | 45,00 | 7,87 | 51,56 | 7,25 | 43,50 |

*Tabelle XVIII.*

Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff.

Periode V.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | | |
| Mittel der Periode IV | 1151 | 541,2 | 6006 | 25,40 | 1052 | 525,4 | 5189 | 27,12 | |
| 1. X. | 1395 | 567,6 | 6775 | 21,01 | 1278 | 582,2 | 5000 | 18,94 | Vorperiode (1.–5. X.) |
| 2. X. | 1255 | 565,9 | 4900 | 22,06 | 1268 | 539,4 | 3850 | 22,88 | |
| 3. X. | 1355 | 562,6 | 4330 | 22,15 | 1335 | 576,8 | 4450 | 21,64 | |
| 4. X. | 1474 | 596,7 | 5910 | 21,14 | 1480 | 579,0 | 4860 | 22,19 | |
| 5. X. | 1538 | 613,5 | 6480 | 21,38 | 1575 | 612,6 | 3900 | 22,23 | |
| 6. X. | 1422 | 509,1 | 5860 | 20,58 | 1435 | 591,4 | 3830 | 20,45 | |
| 7. X. | 1452 | 578,3 | 5490 | 20,04 | 1515 | 602,8 | 3780 | 24,42 | |
| 8. X. | 1426 | 587,4 | 5120 | 20,07 | 1533 | 658,5 | 5420 | 22,87 | |
| 9. X. | 1443 | 582,7 | 4980 | 20,17 | 1565 | 614,1 | 3720 | 22,91 | |
| 10. X. | 1405 | 559,6 | 5840 | 21,99 | 1530 | 681,3 | 2630 | 22,68 | |
| 11. X. | 1474 | 600,9 | 5480 | 21,77 | 1627 | 695,3 | 6120 | 23,35 | |
| 12. X. | 1345 | 544,4 | 3780 | 22,28 | 1495 | 620,8 | 4000 | 22,82 | |
| 13. X. | 1510 | 614,0 | 5400 | 22,43 | 1552 | 676,5 | 4870 | 23,01 | |
| 14. X. | 1400 | 609,2 | 4770 | 21,45 | 1483 | 604,5 | 4000 | 21,84 | |
| 15. X. | 1610 | 749,9 | 5370 | 20,43 | 1504 | 631,3 | 4700 | 16,75 | |
| 16. X. | 1423 | 599,7 | 5860 | 22,54 | 1585 | 642,8 | 6000 | 23,06 | |
| Mittel: | 1446 | 594,1 | 5268 | 21,27 | 1528 | 636,3 | 4470 | 21,90 | |
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | | |
| Mittel der Periode IV | 1187 | 561,1 | 4311 | 25,10 | 1067 | 532,3 | 2957 | 24,13 | |
| 1. X. | 1211 | 547,4 | 3900 | 20,98 | 1262 | 617,6 | 2860 | 19,10 | Vorperiode (1.–5. X.) |
| 2. X. | 1445 | 637,2 | 3360 | 19,07 | 1452 | 652,7 | 2400 | 20,84 | |
| 3. X. | 1537 | 625,2 | 3000 | 18,63 | 1637 | 655,2 | 2350 | 18,61 | |
| 4. X. | 1702 | 681,2 | 2830 | 19,03 | 1561 | 649,2 | 1800 | 18,65 | |
| 5. X. | 1660 | 658,8 | 2900 | 19,81 | 1545 | 626,1 | 2740 | 17,29 | |
| 6. X. | 1501 | 665,3 | 3420 | 19,64 | 1658 | 684,9 | 2820 | 18,07 | |
| 7. X. | 1582 | 645,7 | 2660 | 19,73 | 1469 | 612,1 | 2320 | 18,66 | |
| 8. X. | 1404 | 621,4 | 3210 | 20,23 | 1432 | 588,2 | 2950 | 18,57 | |
| 9. X. | 1581 | 676,2 | 3390 | 19,59 | 1297 | 533,3 | 2230 | 18,86 | |
| 10. X. | 1565 | 651,5 | 2540 | 19,46 | 1186 | 552,0 | 2770 | 18,02 | |
| 11. X. | 1619 | 642,4 | 4000 | 20,40 | 1569 | 587,9 | 3060 | 19,19 | |
| 12. X. | 1597 | 623,6 | 3060 | 19,51 | 1487 | 567,0 | 2290 | 18.77 | |
| 13. X. | 1559 | 665,2 | 2950 | 19,62 | 1519 | 630,1 | 2800 | 19,38 | |
| 14. X. | 1685 | 617,2 | 3180 | 20,14 | 1649 | 743,4 | 2740 | 18,20 | |
| 15. X. | 1625 | 816,1 | 3420 | 20,00 | 1804 | 799,8 | 3000 | 19,05 | |
| 16. X. | 1569 | 833,5 | 3500 | 20,03 | 1606 | 538,9 | 2820 | 19,15 | |
| Mittel: | 1575 | 678,1 | 3295 | 19,85 | 1516 | 621,6 | 2709 | 18,72 | |

Die Kottrockensubstanz in Prozenten des Frischkotes betrug bei Ziege 1: 41,09, bei Ziege 2: 41,64, Ziege 3: 43,06, bei Ziege 6: 41,00. Es wurde wieder ein wasserhaltigerer Kot ausgeschieden. Aus der Kotanalyse berechnet sich dann die Verwertung der Nährstoffe folgendermaßen: siehe Tabelle XIX, S. 327.

Eine bessere Verdaulichkeit der Rohfaser als Folge des Nachlassens der Depression infolge verminderter Zuckergabe ist festzustellen. Mit Hilfe der Verdauungskoeffizienten ergibt sich der wirkliche Gehalt der Rationen an verdaulichen Nährstoffen und an Stärkewert.

| | Gewicht kg | Fett kg | Rohfaser kg | N-freie Extrakt-stoffe kg | Rohprotein kg | Reineiweiß kg | Amide kg | Stärkewert kg | Eiweiß-verhältnis aus Ges.-N | | Milchertrag je 1000 kg kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | aus Ges.-N | aus unl. N | |
| Ziege 1. | 42,50 | 0,89 | 5,08 | 14,28 | 4,69 | **4,31** | 0,38 | **21,00** | 1 : 4,98 | 1 : 4,55 | 19,6 |
| „ 2. | 40,30 | 1,19 | 4,24 | 12,66 | 5,05 | **4,66** | 0,39 | **19,71** | 1 : 4,18 | 1 : 3,73 | 29,7 |
| „ 3. | 39,79 | 1,41 | 5,11 | 17,10 | 5,61 | **5,12** | 0,49 | **25,13** | 1 : 4,94 | 1 : 4,52 | 41,8 |
| „ 6. | 36,63 | 1,13 | 5,59 | 15,68 | 5,24 | **4,76** | 0,48 | **23,07** | 1 : 4,99 | 1 : 4,47 | 39,8 |
| | | | | | | | | | | Mittel: | 32,7 |

Der Stärkewert hat sich infolge des veränderten Körpergewichts im Vergleich zu der ersten Grundfutterperiode um ein Geringes verschoben, während das Eiweißverhältnis hierdurch so gut wie unberührt geblieben ist.

*Tabelle XIX.* Verwertung der Nährstoffe in Periode V.

| | Gesamt-N g | Aus Ges.-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach *Stutzer* | Amide g | Roh-faser g | Roh-fett g | N-freie Extrakt-stoffe g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein g | Eiweiß g | Roh-protein g | Eiweiß g | | | | | |
| | | | | | Ziege 1 | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | | 21,18 | 377,60 | 57,31 | 870,67 |
| Ab Rest . . | 0,36 | 2,25 | 2,05 | 2,25 | 2,03 | | 0,20 | 5,12 | 0,51 | 8,81 |
| | 41,94 | 262,12 | 241,11 | 262,12 | 241,11 | | 20,98 | 372,48 | 56,80 | 861,86 |
| Im Kot . . | 10,05 | 62,82 | 57,82 | 40,56 | 40,56 | | 5,00 | 156,28 | 19,08 | 246,64 |
| Verdaut . . | 31,89 | 199,30 | 183,29 | 221,56 | 200,55 | 196,65 | 15,98 | 216,20 | 37,72 | 615,22 |
| Verdauungs-koeffizient . | 76,0 | 76,0 | 76,0 | 84,5 | 83,2 | 75,0 | 76,2 | 58,0 | 66,4 | 70,5 |
| | | | | | Ziege 2 | | | | | |
| Einnahme . | 44,79 | 279,57 | 256,96 | 279,57 | 256,96 | | 22,45 | 341,10 | 67,21 | 790,15 |
| Ab Rest . . | 0,34 | 2,11 | 1,92 | 2,11 | 1,92 | | 0,19 | 4,80 | 0,48 | 8,26 |
| | 44,45 | 277,46 | 255,04 | 277,46 | 255,04 | | 22,26 | 336,30 | 66,73 | 781,89 |
| Im Kot . . | 11,79 | 73,66 | 67,08 | 45,00 | 45,00 | | 6,58 | 165,32 | 18,55 | 271,95 |
| Verdaut . . | 32,66 | 203,80 | 187,96 | 232,46 | 210,04 | 213,49 | 15,68 | 170,98 | 48,18 | 509,94 |
| Verdauungs-koeffizient . | 73,5 | 73,5 | 73,6 | 83,7 | 82,4 | 76,9 | 70,4 | 50,8 | 72,2 | 65,2 |
| | | | | | Ziege 3 | | | | | |
| Einnahme . | 48,33 | 301,57 | 277,36 | 301,57 | 277,36 | | 24,05 | 391,28 | 72,19 | 874,95 |
| Ab Rest . . | 0,53 | 3,24 | 2,95 | 3,24 | 2,95 | | 0,29 | 7,37 | 0,73 | 12,68 |
| | 47,88 | 298,33 | 274,41 | 298,33 | 274,41 | | 23,76 | 383,91 | 71,36 | 862,27 |
| Im Kot . . | 12,02 | 75,18 | 70,67 | 51,56 | 51,56 | | 4,51 | 180,32 | 15,49 | 281,98 |
| Verdaut . . | 35,78 | 223,15 | 203,74 | 246,77 | 222,85 | 227,3 | 19,25 | 203,50 | 55,97 | 680,29 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,8 | 74,8 | 74,2 | 82,7 | 81,2 | 76,2 | 81,0 | 53,0 | 78,4 | 78,9 |
| | | | | | Ziege 6 | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | | 21,18 | 377,60 | 57,31 | 870,67 |
| Ab Rest . . | 1,21 | 7,44 | 6,77 | 7,44 | 6,77 | | 0,67 | 16,92 | 1,69 | 29,11 |
| | 41,09 | 256,93 | 236,39 | 256,93 | 236,39 | | 20,51 | 360,68 | 55,62 | 841,56 |
| Im Kot . . | 10,38 | 64,87 | 61,87 | 43,50 | 43,50 | | 3,00 | 156,62 | 13,98 | 167,16 |
| Verdaut . . | 30,71 | 192,06 | 174,52 | 213,43 | 192,89 | 196,32 | 17,51 | 204,06 | 41,64 | 574,40 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,7 | 74,7 | 73,8 | 83,1 | 81,6 | 76,6 | 85,3 | 56,6 | 74,9 | 68,3 |

Die Aufstellung der Stickstoffbilanzen lautet folgendermaßen:

Stickstoffbilanzen der Periode V.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter . . . . | 41,94 | 44,45 | 47,80 | 41,09 |
| N im Kot . . . . . | 10,05 | 11,79 | 12,02 | 10,38 |
| Verdaut . . . . . . | 31,89 | 32,66 | 35,78 | 30,71 |
| Davon im Harn . . | 21,27 | 21,90 | 19,85 | 18,72 |
| in der Milch . . . | 5,11 | 7,23 | 10,05 | 7,27 |
| Summe . . . . . . | 26,38 | 29,13 | 29,90 | 25,99 |
| Ansatz . . . . . . . | 5,51 | 3,53 | 5,98 | 4,72 |
| Gewichtszunahme je Tag . . . . . . . | 92 g | 100 g | 55 g | 87 g |

Bei allen Tieren hat ein starker Stickstoffansatz stattgefunden, der sich äußerlich dadurch kundtut, daß das Körpergewicht sich vermehrt hat. Infolge der durch die Lactation bedingten geringeren Milchmenge stand den Tieren ein verhältnismäßig nährstoffreicheres Futter zur Verfügung. Es erschien aus versuchstechnischen Gründen nicht ratsam, deshalb die Rationen zu verkürzen.

Da die Harnstoffperiode zeitlich von zwei Grundfutterperioden eingeschlossen ist, so kann festgestellt werden, ob die in Periode IV gefundenen positiven Bilanzen als solche zu bewerten sind (siehe folgende Zusammenstellung):

Es wurden angesetzt bei

| | In Periode III | In Periode V | Mittel | In Periode IV | Also + oder — auf Mittelzahlen bezogen | Also + oder — auf Periode III bezogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 3,57 | 5,51 | 4,54 | 0,47 | — 4,07 | — 3,10 |
| „ 2 | 2,87 | 3,53 | 3,20 | 1,13 | — 2,07 | — 1,74 |
| „ 3 | 4,14 | 5,98 | 5,06 | — 0,52 | — 5,58 | — 4,66 |
| „ 6 | 3,59 | 4,72 | 4,15 | 0,31 | — 3,84 | — 3,28 |
| | | | | Mittel: | — 3,89 | — 3,19 |

*Der Harnstoff hat demnach im Vergleich zur eiweißreichen Grundfutterperiode zu einem erheblichen Stickstoffverlust geführt.* Die Stickstoffabgaben können zum Teil mit einem Abbau von Körpersubstanz zusammenhängen, da das Körpergewicht in Wirklichkeit überall eine Abnahme erfahren hat, falls die vorher geäußerte Ansicht, daß der Organismus infolge Ausscheidens eines trockeneren Kotes in den Ersatzperioden wasserärmer geworden ist, ausgeschlossen wird. Stickstoffverluste nach Darreichung von Harnstoff sind nichts neues. In der Einleitung wurde auf die Beobachtung einzelner Forscher bereits hingewiesen, es sei an die Versuche *Morgens*[1]) erinnert, wonach bei Hammel 11 und 18, die sich im Stickstoffgleichgewicht befanden, nach Ersatz des Blutmehls durch eine im Stickstoffgehalt gleiche Menge Harnstoff (18,6 g) mit Beginn der Harnstofffütterung ein starker Stickstoffverlust bis zu 4 g täglich eintrat, obschon das Körpergewicht anfangs nahezu konstant blieb. In den Versuchen *Honcamps*[2]) betrug der durch

[1]) L. V. St. **99**, 1, 1922.

[2]) Diese Zeitschr. **188**, a. a. O.

Harnstoff (10,5 g) im Vergleich zu einer Caseinzulage hervorgerufene Stickstoffverlust mehr als 1 g pro Tag. Ganz im Gegensatz stehen die Angaben von *Völtz*[1]), welcher bei Hammellämmern allerdings in einer nahezu eiweißfreien Futtermischung stets positive Bilanzen erzielte.

Die Minderwirkung des Harnstoffs kann vielleicht auf die Weise erklärt werden, daß durch das Ersetzen größerer Mengen leichtverdaulicher Stoffe (Hefe und Weizenschalen) durch Harnstoff die zurückgebliebene Futterration verhältnismäßig schwerer verdaulich wird; der verabfolgte Harnstoff ist eine leicht lösliche und diffundierbare Stickstoffverbindung und muß, insofern er nicht oder nur teilweise in Bakterieneiweiß umgewandelt worden ist, in gewissem Umfang sofort im Harn erscheinen.

**Periode VI: Glykokollperiode.**

In der nun folgenden Ersatzperiode mußte eine Änderung der auszutauschenden Futterstoffe eintreten, da die Tiere die Aufnahme der Tränke sofort verweigerten. Folgende Futterstoffe wurden ersetzt:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 100 g Hefe | = | 40,12 g | verdauliches Rohprotein |
| 100 g Leinmehl | = | 21,44 g | „ „ |
| 50 g Weizenschalen | = | 5,43 g | „ „ |
| 200 g Heu | = | 13,88 g | „ „ |
| | zusammen | 80,87 g | verdauliches Rohprotein |

= 12,97 g N, durch 70 g Glykokoll = 13,04 g N und 200 g Zucker zur Ergänzung des Stärkewertes.

Die einzelnen Rationen hatten demnach folgende Zusammensetzung: s. Tabelle XX, S. 330.

Durch die abweichende Fütterung wurde der Stärkewert nur unwesentlich verändert. Wenn der Stärkewert ausreichend hoch bemessen ist, beeinflussen geringe Unterschiede nicht die Milchleistung.

Die Wirkung der veränderten Fütterungsweise auf die Milchzusammensetzung ist aus Tabelle XXI, S. 331, ersichtlich.

1. *Milchmenge.* Die Milchmenge sank überraschend stark in der ersten Woche der Glykokollfütterung. Bei Ziege 3 betrug der Abfall 46,2 g. Die Futteraufnahme war ungleichmäßig. Es hinterblieben öfters größere Heureste, insbesondere hatte der Wasserkonsum erheblich nachgelassen; früher soffen die Tiere 9 Liter, jetzt betrug die Menge nur noch 5 bis 6 Liter. Infolge der vorgeschrittenen Jahreszeit war natürlich die Temperatur niedriger und dementsprechend auch das Trinkbedürfnis ein geringeres. Erst in der zweiten Woche wurde die Depression in der Milchleistung aufgehoben. Bei den Ziegen 1 und 6 stieg die Milchmenge so weit an, daß die Mittelwerte der vorangegangenen Grundfutterperiode um etwa 160 g überschritten wurden. Ziege 2 bildete hier wiederum eine Ausnahme. Die Milchmenge fiel abschnittsweise ab.

2. *Trockensubstanz.* Auf den prozentigen Gehalt an Trockensubstanz hat die Glykokollfütterung günstig eingewirkt; ausnahmslos ist eine Erhöhung eingetreten, welche bei Ziege 2: 2 Proz., bei Ziege 1 und 3 etwa 1 Proz. betrug. Die absoluten Zahlen folgen in ihren Schwankungen den Werten für die Milchmenge.

3. *Fett.* Auffallend beeinflußt ist der Fettgehalt. Die Prozentzahlen steigen schon am zweiten Tage der Glykokollfütterung beträchtlich an. Bei Ziege 1 betrug der höchste Wert 6,75 Proz., der mittlere 5,33 Proz.,

[1]) Diese Zeitschr. 102, a. a. O.



*Tabelle XX.*

Zusammensetzung der Ration in der Periode VI (Glykokoll).

| | Trocken-substanz | Organische Substanz | Gesamt-N | Rohprotein | Verdauliches Rohprotein | Reineiweiß | Amid-substanz | Rohfett | Rohfaser | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Ziege 1 und 6 | | | | | |
| Heu . . . 1000 g | 887,00 | 809,80 | 17,65 | 110,00 | 69,40 | 102,00 | 8,00 | 24,90 | 250,90 | 424,00 |
| Leinmehl . 50 g | 45,30 | 39,89 | 1,98 | 12,41 | 10,57 | 11,41 | 0,99 | 4,96 | 4,56 | 17,97 |
| Weizensch. 150 g | 133,35 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,67 | 71,84 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 250 g | 248,85 | 248,15 | — | — | — | — | — | — | — | 218,15 |
| Glykokoll 70 g | 70,00 | 70,00 | 13,04 | 81,50 | 81,50 | — | 81,50 | — | — | — |
| | 1569,50 | 1470,74 | 39,15 | 244,36 | 197,73 | 153,77 | 90,58 | 39,75 | 307,63 | 891,98 |
| | | | | | Ziege 2 | | | | | |
| Heu . . . 800 g | 709,60 | 647,84 | 14,16 | 88,00 | 55,50 | 81,60 | 6,40 | 19,92 | 200,72 | 329,20 |
| Leinmehl . 200 g | 181,20 | 159,59 | 7,93 | 49,61 | 42,28 | 45,61 | 3,96 | 19,84 | 18,24 | 71,88 |
| Weizensch. 150 g | 133,35 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,67 | 71,84 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 250 g | 248,85 | 248,15 | — | — | — | — | — | — | — | 248,15 |
| Glykokoll 70 g | 70,00 | 70,00 | 13,04 | 81,50 | 81,50 | — | 81,50 | — | — | — |
| | 1528,00 | 1428,48 | 41,61 | 259,56 | 215,54 | 167,57 | 91,95 | 49,65 | 271,13 | 821,09 |
| | | | | | Ziege 3 | | | | | |
| Heu . . . 1000 g | 887,00 | 809,80 | 17,65 | 110,00 | 69,40 | 102,00 | 8,00 | 24,90 | 250,90 | 424,00 |
| Leinmehl . 200 g | 181,20 | 159,59 | 5,95 | 49,61 | 42,28 | 45,61 | 3,96 | 19,84 | 18,24 | 71,88 |
| Weizensch. 150 g | 133,35 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,67 | 71,84 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 250 g | 248,85 | 248,15 | — | — | — | — | — | — | — | 248,15 |
| Glykokoll 70 g | 70,00 | 70,00 | 13,04 | 81,50 | 81,50 | — | 81,50 | — | — | — |
| | 1705,40 | 1590,54 | 45,10 | 281,56 | 229,44 | 187,97 | 93,55 | 54,63 | 321,31 | 945,89 |
| | | | | | Ziege 4 und 5 | | | | | |
| Heu . . . 600 g | 532,20 | 485,88 | 10,59 | 66,00 | 41,64 | 61,20 | 4,80 | 14,94 | 150,54 | 254,40 |
| Leinmehl . 50 g | 45,30 | 39,89 | 1,98 | 12,41 | 10,57 | 11,41 | 0,99 | 4,96 | 4,56 | 17,97 |
| Weizensch. 150 g | 133,35 | 124,92 | 2,96 | 18,47 | 16,28 | 18,38 | 0,09 | 4,41 | 31,67 | 71,84 |
| Hafer . . . 200 g | 185,00 | 177,98 | 3,52 | 21,98 | 19,98 | 21,98 | — | 5,48 | 20,50 | 130,02 |
| Zucker . . 250 g | 248,85 | 248,15 | — | — | — | — | — | — | — | 248,15 |
| Glykokoll 70 g | 70,00 | 70,00 | 13,04 | 81,50 | 81,50 | — | 81,50 | — | — | — |
| | 1214,70 | 1146,82 | 32,08 | 200,36 | 169,97 | 112,97 | 87,38 | 29,79 | 207,27 | 721,58 |

bei Ziege 2 ebenso 8,20 und 7,14, bei Ziege 3: 6,50 und 4,91, bei Ziege 4: 7,00 und 5,87, bei Ziege 5: 5,90 und 4,80, bei Ziege 6: 6,65 und 4,96. Diese Zahlen sind nicht zufällig und können nicht mit der durch die fortschreitende Lactation bedingten Zunahme an Fett und Trockensubstanz in Zusammenhang stehen. Die Zunahme an Fettprozenten im Vergleich zu der Anfangsperiode betrug im Durchschnitt bei Ziege 1 das 1,6-, bei Ziege 2 das 1,9-, bei Ziege 3 das 1,9-, bei Ziege 4 das 1,6-, bei Ziege 5 das 1,4- und bei Ziege 6 das 1,4fache, im Mittel das 1,6fache. *Fleischmann* und *Hitscher*[1]) beoabachteten bei ihren Versuchen an Kühen eine Zunahme an Fett, welche im Höchstfalle

[1]) *König*, Chemie der menschl. Nahr.- u. Genußmittel, 4. Aufl., 2. Teil. S. 604, 1904.

## Tabelle XXI.

### Periode VI. Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Glykokollperiode.

| Tag | Milchmenge | | | | | | Fettgehalt | | | | | | | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | |
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| Mittel der Periode V . . | *833* | *1197* | *1664* | *1144* | *886* | *1458* | *4,40* | *36,74* | *5,61* | *67,63* | *3,57* | *59,26* | *5,19* | *59,10* | *4,52* | *40,10* | *4,37* | *64,15* | *14,4* |
| 17. X. | 862 | 1085 | 1636 | 1030 | 939 | 1405 | 4,20 | 36,20 | 5,80 | 63,00 | 3,95 | 64,60 | 5,10 | 52,50 | 4,10 | 38,50 | 4,00 | 56,20 | 14½ |
| 18. X. | 727 | 980 | 1358 | 791 | 797 | 1197 | 5,25 | 38,00 | 6,00 | 58,90 | 4,30 | 58,40 | 5,75 | 45,50 | 4,30 | 34,10 | 4,00 | 47,90 | 14½ |
| 19. X. | 517 | 969 | 1260 | 918 | 779 | 1159 | 5,00 | 25,70 | 6,20 | 60,00 | 3,90 | 49,10 | 6,90 | 63,20 | 5,20 | 40,50 | 4,70 | 59,40 | 14½ |
| 20. X. | 755 | 1003 | 994 | 902 | 797 | 1323 | 6,20 | 46,80 | 7,20 | 72,10 | 4,55 | 45,10 | 6,00 | 54,10 | 5,20 | 41,40 | 4,60 | 60,90 | 14½ |
| 21. X. | 753 | 750 | 1061 | 818 | 842 | 1318 | 5,25 | 39,60 | 7,95* | 59,63 | 6,50* | 69,00 | 6,80 | 55,60 | 4,60 | 38,70 | 4,90 | 64,50 | 15 |
| 22. X. | 733 | 900 | 1038 | 887 | 899 | 1099 | 5,20 | 38,20 | 8,10 | 72,90 | 6,00 | 63,40 | 7,00* | 62,09 | 5,00 | 44,90 | 6,00 | 65,90 | 14 |
| 23. X. | 838 | 1033 | 1067 | 1011 | 911 | 1155 | 5,50 | 46,00 | 7,00 | 72,31 | 5,00 | 53,30 | 5,70 | 57,60 | 4,95 | 45,00 | 5,30 | 61,30 | 12½ |
| Mittel des 1. Abschnitts . | *741* | *960* | *1202* | *908* | *852* | *1239* | *5,23* | *38,64* | *6,89* | *65,55* | *4,89* | *57,56* | *6,33* | *55,79* | *4,77* | *40,44* | *4,78* | *59,87* | |
| 24. X. | 908 | 883 | 1129 | 1098 | 835 | 1106 | 6,05 | 54,90 | 7,45 | 65,90 | 5,50 | 62,10 | 5,50 | 60,40 | 4,35 | 36,30 | 4,45 | 49,20 | 12 |
| 25. X. | 893 | 823 | 1067 | 1065 | 706 | 1148 | 6,00 | 53,90 | 7,80 | 64,10 | 5,60 | 59,60 | 5,65 | 60,30 | 5,20 | 36,60 | 4,75 | 54,50 | 12 |
| 26. X. | 962 | 827 | 1234 | 1068 | 829 | 1150 | 5,15 | 49,50 | 7,45 | 61,50 | 5,00 | 61,60 | 5,45 | 58,20 | 4,75 | 39,10 | 5,25 | 60,40 | 12 |
| 27. X. | 819 | 803 | 1263 | 1002 | 671 | 1185 | 4,50* | 36,80 | 7,60 | 61,00 | 4,80 | 60,60 | 5,10 | 51,05 | 4,30 | 28,90 | 5,25 | 62,30 | 12 |
| 28. X. | 895 | 778 | 1269 | 993 | 855 | 1126 | 4,60* | 41,10 | 7,50 | 58,20 | 4,90 | 62,10 | 5,10 | 50,70 | 4,50 | 38,50 | 5,80* | 65,20 | 11½ |
| 29. X. | 866 | 841 | 1263 | 1031 | 861 | 1007 | 5,60 | 48,50 | 7,55 | 63,50 | 5,00 | 63,20 | 5,65 | 58,40 | 4,60 | 39,50 | 6,65 | 66,60 | 11½ |
| 30. X. | 942 | 779 | 1246 | 940 | 833 | 1005 | 6,75 | 63,80 | 7,70 | 59,90 | 5,10 | 63,50 | 6,20 | 58,20 | 4,80 | 40,00 | 5,60 | 56,00 | 12½ |
| Mittel des 2. Abschnitts . | *869* | *819* | *1210* | *1028* | *798* | *1104* | *5,52* | *49,79* | *7,58* | *62,01* | *5,13* | *61,81* | *5,52* | *56,75* | *4,64* | *36,99* | *5,39* | *59,17* | |
| 31. X. | 1000 | 862 | 1171 | 945 | 820 | 1138 | 5,90 | 59,00 | 7,50 | 64,70 | 4,90 | 57,40 | 5,90 | 55,80 | 4,60 | 37,60 | 5,80 | 66,00 | 13 |
| 1. XI. | 960 | 886 | 1143 | 913 | 817 | 1174 | 5,90 | 56,64 | 7,40 | 65,56 | 5,25 | 60,01 | 5,95 | 54,32 | 4,40 | 35,95 | 5,55 | 65,16 | 14½ |
| 2. XI. | 1010 | 757 | 1228 | 876 | 622 | 1209 | 5,45 | 55,05 | 7,50 | 56,78 | 5,00 | 61,40 | 5,80 | 50,81 | 5,15 | 32,03 | 5,05 | 61,05 | 14½ |
| 3. XI. | 1033 | 811 | 1192 | 1017 | 635 | 1295 | 5,30 | 54,75 | 8,00 | 64,88 | 4,90 | 58,41 | 5,90 | 60,00 | 5,90* | 37,47 | 4,45 | 57,63 | 13½ |
| 4. XI. | 986 | 723 | 1284 | 1070 | 784 | 1308 | 5,05 | 49,79 | 7,80 | 56,39 | 4,60 | 59,06 | 6,50 | 69,55 | 5,00 | 39,20 | 4,45 | 58,21 | 13½ |
| 5. XI. | 990 | 798 | 1160 | 1027 | 852 | 1258 | 4,85 | 48,02 | 7,70 | 61,45 | 4,45 | 51,62 | 6,20 | 63,67 | 5,20 | 44,30 | 4,50 | 56,61 | 14 |
| 6. XI. | 1063 | 702 | 1233 | 939 | 892 | 1378 | 4,60 | 48,90 | 8,20 | 57,56 | 5,00 | 61,75 | 5,40 | 50,71 | 5,15 | 45,93 | 4,40 | 60,63 | 13½ |
| 7. XI. | 1018 | 717 | 1144 | 968 | 842 | 1220 | 4,95 | 50,39 | 8,15 | 58,44 | 3,90 | 44,62 | 5,35 | 51,79 | 4,55 | 38,31 | 4,25 | 51,85 | 13 |
| Mittel des 3. Abschnitts . | *1008* | *782* | *1194* | *969* | *895* | *1248* | *5,25* | *52,82* | *7,77* | *60,72* | *4,75* | *56,78* | *5,88* | *57,08* | *4,99* | *38,85* | *4,80* | *59,64* | |
| Mittel der Periode VI . . | *888* | *809* | *1202* | *978* | *810* | *1198* | *5,33* | *47,18* | *7,44* | *60,86* | *4,91* | *58,68* | *5,87* | *56,59* | *4,81* | *38,74* | *4,96* | *59,41* | *13,3* |

* Milchfettprozente am Tage der Brunst.

*Tabelle XXI* (Fortsetzung).

Periode VI. Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Glykokollperiode.

| Tag | Trockensubstanz | | | | | | | | | | | | Körpergewicht | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | | | | | | | Ziege | | | | | | |
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | kg | kg | kg | kg | kg | kg | Grad |
| Mittel der Periode V . . | ***13,59*** | ***113,1*** | ***14,85*** | ***175,8*** | ***13,05*** | ***217,0*** | ***14,60*** | ***167,7*** | ***13,32*** | ***117,2*** | ***13,17*** | ***192,0*** | ***42,50*** | ***40,30*** | ***39,79*** | ***39,02*** | ***36,17*** | ***36,63*** | ***14,4*** |
| 17. X. | 13,48 | 116,1 | 15,20 | 165,0 | 13,49 | 220,5 | 14,55 | 150,0 | 12,54 | 117,4 | 12,88 | 181,0 | 43,20 | 40,50 | 39,50 | 38,00 | 36,67 | 37,50 | 14½ |
| 18. X. | 14,43 | 104,6 | 15,38 | 150,0 | 13,68 | 185,2 | 15,47 | 122,5 | 13,06 | 102,0 | 12,77 | 152,5 | 42,00 | 40,56 | 40,21 | 37,24 | 35,45 | 36,62 | 14½ |
| 19. X. | 14,68 | 76,0 | 15,93 | 154,1 | 13,74 | 173,4 | 16,52 | 151,5 | 13,94 | 108,2 | 13,59 | 157,1 | 41,90 | 40,58 | 38,81 | 38,00 | 36,74 | 36,73 | 14½ |
| 20. X. | 15,75 | 119,0 | 16,58 | 165,5 | 14,84 | 147,8 | 15,67 | 150,0 | 14,15 | 112,1 | 13,59 | 180,0 | 41,70 | 40,50 | 38,00 | 39,40 | 37,71 | 37,47 | 14½ |
| 21. X. | 14,55 | 109,9 | 17,90 | 134,2 | 16,24 | 172,2 | 16,44 | 134,0 | 13,42 | 113,5 | 13,76 | 181,1 | 42,49 | 39,30 | 37,56 | 38,00 | 37,52 | 36,57 | 15 |
| 22. X. | 14,12 | 103,5 | 17,30 | 155,8 | 15,99 | 169,0 | 16,94 | 150,3 | 15,04 | 135,0 | 13,68 | 150,1 | 42,00 | 37,56 | 37,00 | 35,52 | 37,00 | 35,42 | 14 |
| 23. X. | 14,35 | 120,0 | 16,18 | 167,2 | 14,70 | 156,9 | 15,08 | 152,9 | 13,34 | 121,5 | 14,04 | 162,0 | 42,00 | 38,49 | 37,29 | 37,71 | 37,00 | 35,54 | 12½ |
| Mittel des 1. Abschnitts. | ***14,48*** | ***107,0*** | ***16,35*** | ***155,9*** | ***14,67*** | ***175,0*** | ***15,81*** | ***144,5*** | ***13,64*** | ***115,7*** | ***13,47*** | ***166,3*** | | | | | | | |
| 24. X. | 15,05 | 136,0 | 16,77 | 147,8 | 15,11 | 171,0 | 14,66 | 161,0 | 13,57 | 113,0 | 13,35 | 147,5 | 42,00 | 38,40 | 38,00 | 37,71 | 36,57 | 36,65 | 12 |
| 25. X. | 14,97 | 133,5 | 16,95 | 139,0 | 15,39 | 164,0 | 14,81 | 158,0 | 13,94 | 98,5 | 14,00 | 160,6 | 41,70 | 38,18 | 38,16 | 38,00 | 36,31 | 36,82 | 12 |
| 26. X. | 14,34 | 138,0 | 16,99 | 140,0 | 14,62 | 180,8 | 14,90 | 159,0 | 13,49 | 111,8 | 14,21 | 163,5 | 41,54 | 38,34 | 38,61 | 38,61 | 37,00 | 37,00 | 12 |
| 27. X. | 13,77 | 112,2 | 17,25 | 148,1 | 14,16 | 179,0 | 14,75 | 147,8 | 13,02 | 87,5 | 13,93 | 165,3 | 41,80 | 38,57 | 38,62 | 38,45 | 36,72 | 36,56 | 12 |
| 28. X. | 13,52 | 121,0 | 16,68 | 130,0 | 14,05 | 178,0 | 14,47 | 144,0 | 13,07 | 111,9 | 14,27 | 160,9 | 41,00 | 38,38 | 38,63 | 38,35 | 37,00 | 35,00 | 11½ |
| 29. X. | 14,64 | 136,4 | 16,85 | 142,0 | 14,46 | 183,0 | 15,49 | 160,0 | 13,75 | 118,1 | 14,93 | 150,2 | 41,73 | 39,00 | 39,10 | 38,62 | 37,00 | 33,60 | 11½ |
| 30. X. | 15,72 | 148,0 | 17,01 | 132,2 | 14,41 | 180,0 | 15,43 | 145,9 | 13,78 | 114,1 | 14,15 | 141,5 | 41,80 | 38,76 | 38,78 | 37,66 | 36,19 | 34,50 | 12½ |
| Mittel des 2. Abschnitts. | ***14,57*** | ***132,1*** | ***16,93*** | ***139,9*** | ***14,60*** | ***176,5*** | ***14,93*** | ***153,7*** | ***13,52*** | ***107,8*** | ***14,12*** | ***155,6*** | | | | | | | |
| 31. X. | 14,74 | 147,0 | 16,76 | 144,1 | 14,41 | 169,0 | 15,37 | 145,0 | 13,51 | 111,0 | 14,99 | 170,5 | 41,70 | 39,87 | 38,75 | 37,32 | 36,00 | 35,60 | 13 |
| 1. XI. | 14,85 | 142,6 | 16,74 | 143,3 | 14,76 | 168,7 | 15,71 | 143,5 | 13,14 | 107,3 | 14,65 | 172,0 | 41,40 | 39,23 | 38,80 | 36,62 | 35,62 | 36,20 | 14½ |
| 2. XI. | 14,58 | 147,3 | 16,93 | 128,1 | 14,34 | 176,1 | 15,41 | 134,8 | 13,92 | 86,6 | 13,89 | 168,0 | 41,90 | 39,50 | 40,20 | 38,60 | 35,59 | 36,88 | 14½ |
| 3. XI. | 14,29 | 147,6 | 17,34 | 130,6 | 14,04 | 167,4 | 15,81 | 160,1 | 15,05 | 95,6 | 13,45 | 174,2 | 42,70 | 38,81 | 39,33 | 38,46 | 36,10 | 35,61 | 13½ |
| 4. XI. | 13,75 | 135,6 | 17,11 | 123,7 | 13,91 | 178,6 | 16,62 | 177,8 | 13,72 | 107,6 | 13,30 | 174,0 | 43,09 | 38,55 | 39,89 | 38,22 | 36,00 | 36,22 | 13½ |
| 5. XI. | 13,98 | 138,4 | 16,93 | 135,1 | 13,98 | 162,2 | 15,93 | 163,6 | 14,29 | 121,8 | 13,23 | 166,4 | 42,53 | 39,21 | 39,52 | 37,48 | 36,40 | 35,58 | 14 |
| 6. XI. | 13,79 | 146,6 | 17,67 | 124,0 | 14,64 | 180,8 | 15,06 | 141,4 | 13,72 | 122,4 | 13,67 | 188,4 | 42,50 | 38,50 | 39,25 | 36,62 | 36,15 | 35,40 | 13½ |
| 7. XI. | 13,67 | 139,2 | 17,19 | 123,3 | 13,03 | 149,1 | 14,94 | 144,6 | 13,35 | 112,4 | 13,31 | 162,4 | 42,77 | 38,90 | 40,36 | 37,45 | 37,13 | 36,11 | 13 |
| Mittel des 3. Abschnitts. | ***14,21*** | ***143,0*** | ***17,54*** | ***132,1*** | ***14,14*** | ***168,9*** | ***15,61*** | ***151,4*** | ***13,84*** | ***108,1*** | ***13,81*** | ***171,9*** | | | | | | | |
| Mittel der Periode VI. . | ***14,40*** | ***123,6*** | ***16,81*** | ***145,4*** | ***14,45*** | ***168,8*** | ***15,05*** | ***149,9*** | ***13,68*** | ***110,9*** | ***13,79*** | ***164,9*** | ***42,52*** | ***39,07*** | ***39,08*** | ***37,82*** | ***36,54*** | ***36,02*** | ***13,3*** |

* Milchfettprozente am Tage der Brunst.

das 1,2fache in der Zeit vom ersten bis zum neunten Monat nach dem Kalben betrug. Nach *Stohmanns*[1]) Angaben über Versuche mit Ziegen trat mit dem Nachlassen der Milch während der Lactationszeit sogar ein Sinken im Fettgehalt ein.

Auf einen Umstand muß indessen besonders verwiesen werden. Die Glykokollfütterung fällt zeitlich mit dem Brünstigwerden der Tiere zusammen. Über den Einfluß der Brunst auf die Milchsekretion bestehen die widersprechendsten Angaben. *Kellner*[2]) beobachtete, daß die sexuelle Erregung von einer Steigerung der Konzentration der Milch begleitet war, insbesondere war der Fettgehalt einseitig erhöht; so stieg der Fettgehalt von 4,63 auf 5,41 Proz., von 3,82 auf 4,44 Proz. Ebenso berichtet *Fleischer*[3]), daß mit gesteigerter Konzentration der Fettgehalt meistens zunahm, während der Proteingehalt bald erhöht, bald vermindert wurde. *G. Schröder*[4]) fand einen Fettgehalt von 4,15 bis 5,75 Proz. in neun verschiedenen Proben. In anderen Fällen, so nach *G. Kühn*[5]), konnte keine Veränderung der Milch von rinderigen Kühen festgestellt werden; ein bestimmter Einfluß des Rinderns auf die Milchbildung scheint nicht vorhanden zu sein. Nach *Weiske*[6]) wirkt die Brunst sichtlich deprimierend auf die Milchproduktion. *Ellenberger* und *Scheunert*[7]) berichten, daß das Geschlechtsleben der Tiere nur einen geringen Einfluß auf die Milchsekretion ausübt, in welcher Richtung dies geschieht, geht nicht aus den Angaben hervor. *Martini*[8]), ferner *W. C. de Graaf*[9]) beobachteten starken Rückgang des Fettgehaltes, während *Backhaus*[10]) der Meinung ist, daß Unterschiede in der Milch rindernder Kühe durch die gewöhnlichen analytischen Verfahren nicht nachgewiesen werden können. Nach *Metzger*[11]) und *Weber*[12]) ist die Einwirkung der geschlechtlichen Erregung auf die Milchabsonderung und die Zusammensetzung der Milch individuell und verschieden. *Kellner*[13]) macht die Rasse für diesen Einfluß verantwortlich. Aus den Ergebnissen *Kellners*[14]) und *Fleischers*[15]) ist zu ersehen, daß die Konzentrationssteigerung der Milch nur an den Tagen, an denen die Brunst eintrat oder zu erwarten war, beobachtet wurde. Es handelte sich in solchen Fällen um 1 oder 2 Tage; der Fettgehalt sank alsdann sofort wieder auf seinen natürlichen Stand. Ergebnisse, nach welchen die Erhöhung im Fettgehalt sich auf eine längere Reihe von Tagen wie in diesem Versuch erstreckt, sind mir nicht bekannt.

---

[1]) *König*, Chemie der menschl. Nahr.- und Genußmittel, 4. Aufl., 2. Teil, S. 656, 1904.
[2]) Landw. Jahrb. **10**, 876, 1881.
[3]) Journ. f. Landw. **20**, 425, 1875.
[4]) Milch-Ztg. **8**, 1128, 1874.
[5]) Journ. f. Landw. **22**, 168, 295, 1874; **23**, 509, 1875; **24**, 173 und 381, 1876; **25**, 322, 1877.
[6]) Zeitschr. f. Biol. **17**, 462, 1881.
[7]) Lehrb. d. vergl. Physiol. d. Haustiere, 2. Aufl., S. 142, 1920.
[8]) Arbeiten d. D. L. G., Heft 37.
[9]) Chem. Weekbl. **16**, 1240. Leyden 1919.
[10]) Ber. d. L. Inst. Königsberg **2**, 74.
[11]) Zeitschr. f. Unters. v. Nahr.- u. Genußmitteln **16**, 273, 1908.
[12]) Milchwirtsch. Zentralbl. **7**, 1, 1911.
[13]) a. a. O.
[14]) a. a. O.
[15]) a. a. O.

Bei Ziege 1 äußerte sich die Brunst am 27. und 28. Oktober, das Tier wurde an beiden Tagen gedeckt. Schon am 18. Oktober, am zweiten Tage der Glykokollfütterung, stieg der Fettgehalt von 4,20 auf 5,25 Proz., am 20. Oktober auf 6,20 Proz. An den Brunsttagen betrug der Fettgehalt 4,5 und 4,6 Proz. und erhöhte sich dann am 30. Oktober auf 6,75, um sich bis zum Ende der Periode auf einer Höhe von 5 Proz. zu halten. Der Fettgehalt bei Ziege 2 betrug zu Anfang 5,80 Proz., stieg rasch auf 7,20 Proz. an, am 21. Oktober, dem Tage der Brunst, auf 7,95 und hielt sich auf diesem Punkte bis zum Ende der Periode, hier erreichte der Fettgehalt sogar eine Höhe von 8,20 Proz. Der Verlauf wird übersichtlicher, wenn man den Fettgehalt abschnittsweise betrachtet. So betrugen die Prozente hierfür in der ersten Woche, in welcher sich die Brunst zeigte, 6,89 Proz., in der zweiten Woche 7,53, in der dritten Woche 7,77 Proz. Auch bei Ziege 3, welche zu Beginn des Versuchs nur einen Fettgehalt von 2,56 Proz. hatte, ist die Glykokollwirkung am zweiten Tage deutlich zu sehen. Der Fettgehalt erreichte 4,3 Proz., am Brunsttage stieg die Zahl allerdings auf 6,5 Proz. Abschnittsweise betrachtet, ergibt sich für den ersten Teil, welcher die Brunstzeit einschließt, 4,89 Proz., für den zweiten Teil 5,13 Proz., für den dritten Teil 4,75 Proz. Bei den Ziegen 4, 5 und 6 ist ebenfalls mit dem Einsetzen der Glykokollfütterung eine Erhöhung der Fettprozente konstatiert worden. Eine Wiederholung der Brunst trat nach dem Decken bei keinem der Tiere ein. *Der Einfluß des Glykokolls auf die prozentige Fetterhöhung tritt bei vorliegenden Versuchen trotz Eintretens der Brunst unverkennbar hervor. Die Wirkung ist um so höher zu bewerten, als das Futterfett infolge der etwas abgeänderten Fütterungsweise um 8 g je Tag geringer war als in der Ersatzperiode IV, in welcher die Fettzahlen um vieles niedriger ausgefallen sind.*

Was nun den absoluten Fettertrag anbetrifft, so lehrt die Tabelle, daß die Menge während der Glykokollverfütterung im Vergleich zu der vorangegangenen Grundfutterperiode bei Ziege 1 sich vermehrt hat. Dies steht im Einklang zu dem zunehmenden Milchquantum trotz fortschreitender Lactation. Die Zunahme betrug rund 11 g pro Tag. Sogar das Mittel der Grundfutterperiode III wurde um 4 g überschritten. Bei Ziege 2 sank die Fettmenge stetig, es wurde weniger Fett ausgeschieden als in Periode V, jedoch annähernd soviel als in der Periode III mit Grundfutter. Bei den anderen Ziegen ist der Unterschied gegen die Grundfutterperiode V nur gering. Auf alle Fälle hat die Fettmenge nicht in demselben Maße abgenommen, wie dies dem starken Abfall der Milchmenge entsprechen müßte. Ein Urteil über die Wirkung des Glykokolls kann erst gefällt werden, wenn die korrigierten Milchertragszahlen vorliegen.

Es bleibt noch übrig, über die Beteiligung des Glykokolls an der Milchbildung einige Berechnungen anzustellen unter Verwertung des Stickstoffs der unmittelbar vorangegangenen Grundfutterperiode (s. Tabelle S. 331). Ziege 1 nutzt den für die Milch verfügbaren Stickstoff infolge des sehr niedrigen Standes des Lactationsstadiums in der Periode V in einem geringeren Maße als in den übrigen Grundfutterperioden aus. Da die Milchmenge bei diesem Tiere in der Grundfutterschlußperiode anstieg, wurde der Berechnung die prozentige Verwertung des Stickstoffs dieser letzten Periode zugrunde gelegt (31,69 statt 25,0 Proz. in Periode V). Bei den anderen Tieren, bei welchen die Lactation in normaler Weise sank, wurden die prozentigen Zahlen der Periode V benutzt.

Es ergeben sich dann folgende Werte:

bei Ziege 1 eine Beteiligung von 6,48 g Stickstoff
„ „ 2 „ „ „ 6,06 g „
„ „ 3 „ „ „ 3,82 g „
„ „ 6 „ „ „ 5,83 g „
im Mittel 5,53 g Stickstoff

oder 34,5 g Eiweiß

In der Milch wurden im Mittel 36,6 g Eiweiß ausgeschieden, so daß also die Verwertung nahezu vollständig wäre unter der Voraussetzung der Ausnutzung des Stickstoffs von etwa 30 Proz. in den Grundfutterperioden. Die Angaben über die Höhe der Beteiligung des Eiweißstoffes sind sehr verschieden. Bei ausreichender Eiweißfütterung beträgt das Verhältnis des für die Milch verfügbaren zu dem in der Milch wirklich ausgeschiedenen Stickstoff etwa 40 bis 70 Proz., bei reichlicher Kohlehydratfütterung kann das Verhältnis ein höheres sein. Die prozentigen Verwertungszahlen haben sich in den Ersatzperioden bei Berechnung unter Ausschaltung der Amide erhöht, zum Teil verdoppelt, wie dies in der Glykokollperiode zutrifft (s. Tabelle S. 338). Zählt man die Amide den Eiweißstoffen zu, so würde man das niedrigere ursprüngliche Eiweißverhältnis erhalten. Die Erhöhung des Eiweißverhältnisses kann selbstverständlich auch dadurch zustande kommen, daß das Reineiweiß durch den Ersatz hochverdaulicher Stickstoffverbindungen durch Amide an Menge abgenommen hat. Das Überwiegen der leichtlöslichen Kohlehydrate bewirkt alsdann, daß das Eiweiß mehr oder weniger vollständig in die Milch übergeht[1]).

Der Gehalt an Rohprotein und Milchzucker ergibt sich aus der Gesamtanalyse.

| | Menge | Mineralstoffe | Ges.-Stickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1 | 888 | 0,849 | 0,594 | 5,27 | 3,71 | 32,93 | 5,33 | 47,18 | 4,51 | 40,05 |
| „ 2 | 809 | 0,873 | 0,609 | 4,92 | 3,80 | 30,75 | 7,44 | 60,86 | 4,70 | 38,02 |
| „ 3 | 1202 | 0,793 | 0,584 | 7,02 | 3,65 | 43,88 | 4,91 | 58,68 | 5,10 | 61,30 |
| „ 4 | 978 | 0,931 | 0,630 | 6,15 | 3,93 | 38,44 | 5,87 | 56,59 | 4,31 | 42,15 |
| „ 5 | 810 | 0,858 | 0,567 | 4,59 | 3,54 | 28,69 | 4,80 | 38,74 | 4,47 | 36,21 |
| „ 6 | 1198 | 0,801 | 0,520 | 6,22 | 3,25 | 38,88 | 4,96 | 59,41 | 4,78 | 57,26 |

Der prozentige Rohprotein- und Milchzuckergehalt ist im allgemeinen unverändert geblieben, dagegen haben die absoluten Zahlen abgenommen. Ziege 1, welche sich im steigenden Lactationsstadium befand, bildete eine Ausnahme.

*Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Die Stoffwechselprodukte sind in Tabelle XXII, S. 336, zusammengestellt. Die Brunsttage fielen aus, weil an diesem Tage die Tiere außerhalb des Stalles gedeckt wurden.

Die Menge des Frischkotes hat stark abgenommen, zum Teil, weil die Tiere an manchen Tagen größere Heureste zurückließen, insbesondere aber, weil ein trocknerer Kot ausgeschieden wurde. Die Kottrockensubstanz in Prozenten des Frischkotes betrug bei Ziege 1: 48,99, bei Ziege 2: 48,95, bei Ziege 3: 46,84, bei Ziege 6: 48,06 Proz. Auf den ersten Blick fällt auf, daß der Harnstickstoff nirgends dieselbe Steigerung wie in den Harnstoffperioden erfahren hat.

[1]) *Kellner*, Ernährung der landw. Nutztiere, 8. Aufl., S. 574, 1919.

*Tabelle XXII.* Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff. Periode VI.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harn-menge g | Harn-Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | | |
| Mittel der Periode V | 1446 | 594,1 | 5269 | 21,27 | 1528 | 636,3 | 4470 | 21,90 | |
| 17. X. | 1128 | 457,0 | 3950 | 22,49 | 1275 | 591,1 | 3750 | 21,82 | |
| 18. X. | 1095 | 495,5 | 3870 | 22,04 | 1230 | 585,8 | 2900 | 22,43 | |
| 19. X. | 861 | 443,8 | 2860 | 20,28 | 1261 | 624,5 | 3825 | 22,00 | Vorperiode |
| 20. X. | 1068 | 527,9 | 3940 | 21,62 | 1018 | 507,1 | 5880 | 21,69 | |
| 21. X. | 1198 | 555,1 | 5820 | 22,31 | | fällt aus | | | |
| 22. X. | 1107 | 527,3 | 4900 | 21,78 | 963 | 462,5 | 2900 | 21,80 | |
| 23. X. | 1148 | 521,7 | 4860 | 20,03 | 1253 | 610,8 | 4500 | 22,67 | |
| 24. X. | 1023 | 449,9 | 5850 | 21,38 | 1115 | 591,4 | 4860 | 22,84 | |
| 25. X. | 1153 | 578,5 | 5750 | 22,48 | 1233 | 543,7 | 4420 | 21,81 | |
| 26. X. | 1118 | 500,5 | 4740 | 22,76 | 1219 | 586,2 | 4755 | 22,02 | |
| 27. X. | 1033 | 480,6 | 4420 | 21,98 | 925 | 474,8 | 4950 | 21,07 | |
| 28. X. | | fällt aus | | | 1117 | 503,4 | 4830 | 28,96 | |
| 29. X. | | ,, | ,, | | 1113 | 566,9 | 4920 | 22,55 | |
| 30. X. | 978 | 490,3 | 4750 | 22,92 | 1196 | 541,6 | 4730 | 22,69 | |
| 31. X. | 1131 | 540,8 | 4870 | 22,34 | 1298 | 557,9 | 4480 | 21,71 | |
| 1. XI. | 1040 | 514,9 | 2900 | 20,59 | 1091 | 508,6 | 3500 | 22,36 | |
| 2. XI. | 1200 | 539,5 | 3740 | 22,90 | 1063 | 538,4 | 3960 | 21,12 | |
| 3. XI. | 957 | 547,3 | 3600 | 22,43 | 932 | 440,7 | 3780 | 22,77 | |
| 4. XI. | 1103 | 543,3 | 5920 | 21,05 | 996 | 504,4 | 3850 | 20,68 | |
| 5. XI. | 1043 | 439,9 | 4870 | 21,61 | 945 | 554,1 | 4680 | 22,78 | |
| 6. XI. | 1015 | 502,8 | 4350 | 22,68 | 957 | 462,3 | 4500 | 24,00 | |
| 7. XI. | 1061 | 525,7 | 4820 | 21,87 | 983 | 499,8 | 4200 | 21,97 | |
| Mittel: | 1074 | 517,5 | 4650 | 21,99 | 1096 | 536,5 | 4290 | 22,58 | |
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | | |
| Mittel der Periode V | 1575 | 678,1 | 3295 | 19,85 | 1516 | 621,6 | 2709 | 18,72 | |
| 17. X. | 1200 | 520,1 | 3630 | 24,03 | 1369 | 585,9 | 1800 | 20,62 | |
| 18. X. | 1340 | 624,1 | 2550 | 22,27 | 1157 | 565,7 | 2400 | 22,09 | |
| 19. X. | 1350 | 601,8 | 2870 | 22,30 | 1266 | 617,0 | 2330 | 22,14 | Vorperiode |
| 20. X. | 1230 | 596,2 | 2930 | 20,14 | 1487 | 691,5 | 2860 | 19,05 | |
| 21. X. | | fällt aus | | | 1257 | 565,5 | 2930 | 19,60 | |
| 22. X. | 1085 | 575,7 | 1850 | 23,74 | 1347 | 626,7 | 2770 | 18,03 | |
| 23. X. | 1110 | 586,5 | 2360 | 22,67 | 896 | 467,2 | 2430 | 20,22 | |
| 24. X. | 1242 | 533,8 | 3350 | 22,65 | 899 | 475,2 | 2910 | 20,15 | |
| 25. X. | 1275 | 571,6 | 3700 | 22,23 | 962 | 488,0 | 3620 | 19,10 | |
| 26. X. | 1330 | 573,3 | 2760 | 23,18 | 1281 | 565,5 | 3420 | 20,39 | |
| 27. X. | 1267 | 547,3 | 3450 | 22,38 | 1419 | 643,1 | 3870 | 19,41 | |
| 28. X. | 1345 | 620,4 | 2870 | 22,82 | | fällt aus | | | |
| 29. X. | 1195 | 555,1 | 3630 | 22,03 | | ,, | ,, | | |
| 30. X. | 1260 | 572,4 | 3280 | 23,44 | 992 | 453,7 | 1830 | 19,45 | |
| 31. X. | 1132 | 584,6 | 2950 | 23,37 | 1177 | 538,8 | 2380 | 19,52 | |
| 1. XI. | 1322 | 772,7 | 2540 | 23,66 | 1030 | 492,6 | 2410 | 19,48 | |
| 2. XI. | 1558 | 653,8 | 3950 | 22,35 | 1269 | 586,8 | 2350 | 19,15 | |
| 3. XI. | 1118 | 595,5 | 2780 | 23,13 | 772 | 454,0 | 2270 | 21,94 | |
| 4. XI. | 1275 | 543,5 | 4350 | 24,08 | 1292 | 610,0 | 2930 | 18,86 | |
| 5. XI. | 1210 | 554,1 | 2400 | 23,07 | 1222 | 572,5 | 1870 | 20,21 | |
| 6. XI. | 1105 | 537,3 | 4030 | 20,58 | 1109 | 570,5 | 2930 | 21,54 | |
| 7. XI. | 1255 | 566,1 | 3850 | 21,26 | 1200 | 608,6 | 5750 | 19,85 | |
| Mittel: | 1250 | 585,5 | 3270 | 22,68 | 1131 | 543,5 | 2916 | 19,82 | |

Aus der Kotanalyse berechnet sich die Verwertung der Nährstoffe aus der Tabelle XXIII, S. 338.

Untersuchung des lufttrockenen Kotes.

Periode VI.

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz | 96,10 | 497,30 | 96,93 | 520,00 | 96,72 | 566,30 | 96,61 | 525,10 |
| Asche | 9,69 | 48,18 | 11,19 | 58,18 | 9,89 | 56,01 | 9,25 | 48,57 |
| Organische Substanz | 86,41 | 429,72 | 85,74 | 445,85 | 86,83 | 491,72 | 87,36 | 458,73 |
| Gesamt-N | 1,56 | 7,75 | 1,73 | 8,99 | 1,76 | 9,97 | 1,57 | 8,24 |
| Rohprotein | 9,75 | 48,49 | 10,81 | 56,21 | 11,00 | 62,29 | 9,82 | 51,56 |
| Reineiweiß | 9,06 | 45,05 | 9,81 | 51,01 | 10,18 | 57,65 | 8,94 | 46,94 |
| Amide | 0,69 | 3,43 | 1,00 | 5,20 | 0,82 | 4,64 | 0,88 | 4,62 |
| Rohfett | 2,20 | 10,94 | 2,05 | 10,66 | 2,37 | 13,42 | 2,53 | 13,28 |
| Rohfaser | 35,28 | 175,45 | 29,31 | 152,41 | 28,62 | 150,28 | 33,18 | 187,89 |
| N-freie Extraktstoffe | 39,19 | 194,89 | 43,57 | 226,56 | 40,28 | 228,11 | 46,39 | 243,56 |
| Pepsinlösl. N | 1,01 | 5,01 | 1,12 | 5,82 | 1,12 | 6,33 | 0,98 | 5,14 |
| „ Rohprotein | 6,31 | 31,31 | 7,00 | 36,37 | 7,00 | 39,56 | 6,12 | 32,12 |

*Das Glykokoll hat den Stoffwechsel günstig beeinflußt.* Die Verdauungskoeffizienten des Rohproteins, sowohl aus dem Gesamtstickstoff wie aus dem pepsinsalzsäureunlöslichen Stickstoff des Kotes sind erhöht, die Verwertung des Rohfettes ist eine bessere. Dasselbe gilt für die stickstofffreien Extraktstoffe. Dagegen erlitt die Verdaulichkeit der Rohfaser eine nicht unerhebliche Depression, deren Ursache in der starken Zuckerbeigabe liegen muß.

Periode VI.

| | Körpergewicht kg | Fett kg | Rohfaser kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohprotein kg | Reineiweiß kg | Amide kg | Stärkewert kg | Eiweißverhältnis | Milchmenge kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 42,52 | 0,60 | 2,32 | 14,98 | 4,26 | **2,24** | 2,02 | **16,17** | 1 : 8,33 | 20,9 |
| „ 2 | 39,07 | 0,93 | 2,34 | 14,03 | 4,89 | **2,20** | 2,69 | **16,10** | 1 : 8,4 | 20,7 |
| „ 3 | 39,08 | 0,97 | 2,53 | 16,79 | 5,22 | **2,98** | 2,24 | **19,23** | 1 : 7,20 | 30,7 |
| „ 6 | 36,02 | 0,66 | 3,65 | 16,78 | 5,03 | **2,68** | 2,35 | **18,92** | 1 : 8,16 | 33,3 |
| | | | | | | | | | Mittel: | 26,4 |

Aus den Stickstoffbilanzen ist zu ersehen, daß ein Ansatz stattgefunden hat:

Stickstoffbilanzen der Periode VI.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter | 36,76 | 39,67 | 42,62 | 35,34 |
| N im Kot | 7,75 | 8,99 | 9,97 | 8,24 |
| Verdaut | 29,01 | 30,68 | 32,65 | 27,10 |
| Davon im Harn | 21,99 | 22,58 | 22,68 | 19,82 |
| in der Milch | 5,27 | 4,92 | 7,02 | 6,22 |
| Summe | 27,26 | 27,50 | 29,60 | 26,04 |
| Ansatz | 1,75 | 3,18 | 2,95 | 1,06 |
| Gewichtsabnahme je Tag | zu 1 g | 56 g | 32 g | 27 g |

Der Stärkewert (s. vorstehende Tabelle) veränderte sich infolge der anderen Fütterungsweise und fiel geringer aus als in den Grundfutterperioden. Dagegen blieb das Rohnährstoffverhältnis konstant.

*Tabelle XXIII.*

Verwertung der Nährstoffe in Periode VI.

| | Gesamt-N | Aus Ges.-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach | Amid | Rohfett | Roh-faser | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein | Eiweiß | Roh-protein | Eiweiß | *Stutzer* | | | | |
| | g | g | g | g | g | | g | g | g | g |
| **Ziege 1** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 39,15 | 244,69 | 153,77 | 244,69 | 153,77 | | 90,58 | 39,75 | 307,63 | 891,98 |
| Ab Rest . . | 2,39 | 14,94 | 13,32 | 14,94 | 13,32 | | 1,33 | 3,33 | 33,30 | 57,27 |
| | 36,76 | 229,75 | 140,45 | 229,75 | 140,45 | | 89,25 | 36,42 | 274,30 | 834,71 |
| Im Kot . . | 7,75 | 48,49 | 45,05 | 31,31 | 31,31 | | 3,43 | 10,94 | 175,45 | 194,89 |
| Verdaut . . | 29,01 | 181,32 | 95,40 | 198,40 | 109,14 | 196,80 | 85,82 | 25,48 | 98,88 | 639,82 |
| Verdauungs-koeffizient . . | 78,9 | 78,9 | 67,9 | 86,3 | 77,7 | 85,7 | 96,1 | 69,9 | 36,1 | 76,6 |
| **Ziege 2** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 41,61 | 259,50 | 167,57 | 259,50 | 147,57 | | 91,95 | 49,65 | 271,13 | 821,09 |
| Ab Rest . . | 1,94 | 11,88 | 10,80 | 11,88 | 10,80 | | 1,08 | 2,70 | 27,00 | 46,44 |
| | 39,67 | 247,62 | 156,77 | 247,62 | 136,77 | | 90,87 | 46,95 | 244,13 | 774,65 |
| Im Kot . . | 8,99 | 56,21 | 51,01 | 36,37 | 36,37 | | 5,20 | 10,66 | 152,41 | 226,56 |
| Verdaut . . | 30,68 | 191,41 | 105,76 | 211,25 | 100,40 | 214,79 | 85,67 | 36,29 | 91,72 | 548,09 |
| Verdauungs-koeffizient . . | 77,3 | 77,3 | 67,6 | 85,3 | 73,4 | 86,7 | 94,2 | 77,3 | 37,6 | 70,7 |
| **Ziege 3** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 45,10 | 281,50 | 187,97 | 281,50 | 187,97 | | 91,95 | 54,63 | 321,31 | 945,89 |
| Ab Rest . . | 2,48 | 15,21 | 13,82 | 15,21 | 13,82 | | 1,39 | 3,45 | 34,50 | 59,46 |
| | 42,62 | 266,29 | 174,15 | 266,29 | 174,15 | | 90,56 | 51,18 | 286,81 | 886,43 |
| Im Kot . . | 9,97 | 62,29 | 57,65 | 39,56 | 39,56 | | 4,64 | 13,42 | 187,89 | 228,11 |
| Verdaut . . | 32,65 | 204,00 | 116,50 | 226,73 | 134,59 | 228,48 | 87,31 | 37,76 | 98,92 | 658,32 |
| Verdauungs-koeffizient . . | 76,6 | 76,6 | 74,8 | 85,1 | 77,2 | 85,7 | 96,4 | 73,8 | 34,5 | 74,3 |
| **Ziege 6** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 39,15 | 244,69 | 153,77 | 244,69 | 153,77 | | 89,25 | 39,75 | 307,68 | 891,98 |
| Ab Rest . . | 1,84 | 11,25 | 10,23 | 11,25 | 10,23 | | 1,02 | 2,55 | 25,57 | 43,98 |
| | 37,31 | 233,11 | 143,54 | 233,11 | 143,54 | | 88,23 | 37,20 | 282,06 | 848,06 |
| Im Kot . . | 8,24 | 51,56 | 46,94 | 32,12 | 32,12 | | 4,62 | 13,28 | 150,28 | 243,56 |
| Verdaut . . | 29,07 | 181,55 | 96,60 | 201,57 | 111,42 | 197,02 | 73,61 | 23,92 | 131,78 | 604,44 |
| Verdauungs-koeffizient . . | 77,9 | 77,9 | 67,3 | 86,4 | 77,6 | 84,5 | 83,4 | 64,3 | 46,7 | 71,3 |

Das Körpergewicht hat bei Ziege 1 und 5 zugenommen, bei den anderen in geringer Weise abgenommen.

Die Verwertung des Glykokolls durch den Organismus wird aus dem Harnstickstoffüberschuß der Periode VI im Vergleich zur Grundfutterperiode V berechnet. Ziege 1 schied in Periode V im Harn 21,27 g Stickstoff aus, in Periode VI 21,99 g Stickstoff, also mehr ausgeschieden in Periode VI 0,72 g Stickstoff.

| | | |
|---|---|---|
| Im Futter wurden weniger aufgenommen . . . . | 5,18 g | Stickstoff |
| im Kot weniger ausgeschieden . . . . . . . . . | 2,30 g | „ |
| mithin weniger verdaut . . . . . . . . . . . . | 2,88 g | Stickstoff |

also wurden im Harn 2,88 + 0,72 = 3,60 g Stickstoff mehr als in Periode V ausgeschieden. Da 13,04 g Stickstoff als Glykokoll verfüttert worden sind, ergibt sich eine Verwertung des Glykokollstickstoffs von 72,4 Proz. Bei Ziege 2 betrug die Verwertung *79,6 Proz.*, bei Ziege 3: 54,97 und bei Ziege 6: 68,8 Proz.

*Das Glykokoll wurde im Mittel zu 68,9 Proz. verwertet. Die Verwertung ist eine bessere als die der gleichen Menge Harnstoff in Periode IV.*

Bezüglich des Körpergewichtes sei noch folgendes nachzutragen: Das niedrigste Körpergewicht wurde an den Tagen festgestellt, an dem die Tiere gedeckt wurden und öfter als gewöhnlich Harn ließen. Bei Ziege 2 und 4 betrug der Unterschied an den genannten Tagen etwa 3 kg, dieser starke Abfall beeinträchtigte natürlich das durchschnittliche Gewicht.

**Periode VII: Grundfutterschlußperiode.**

Der Versuch wurde durch eine Grundfutterperiode abgeschlossen, in welcher dasselbe Futter wie in der ersten Periode gereicht wurde. Die Reste an Heu waren größer als in den bisherigen Perioden, besonders Ziege 1 zeigte eine verminderte Freßlust, während die Tränke mit den Kraftfutterbeilagen stets gesoffen wurde.

Menge und Beschaffenheit der Milch sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt: siehe Tabelle XXIV, S. 340.

*Wirkung auf Menge und Gehalt der Milch.*

Bei sämtlichen Tieren hat eine starke Zunahme an Menge und Qualität als Reaktion auf die von Ersatzstoffen freie Futterration stattgefunden. Die Milchmenge stieg um durchschnittlich 200 g täglich an. Gleichzeitig machte sich alsbald eine Abnahme der prozentigen Trockensubstanz- und Fettzahlen geltend. Schon am zweiten Tage trat dieser Abfall deutlich hervor. Die absoluten Trockensubstanz- und Fettzahlen stiegen jedoch an. Die Fettmenge war im ersten und zweiten Abschnitt am größten und fiel im dritten Teil schneller ab. Es ist fraglich, ob die Nachwirkung des Glykokolls so lange angehalten hat. Sehr wahrscheinlich ist aber die Verminderung auf die gegen Ende der Periode einsetzende widerwillige Aufnahme der Futterration zurückzuführen. Aus der Gesamtanalyse der Milch ergibt sich der Gehalt an Rohprotein und Milchzucker.

| | Menge | Mineralstoffe | Ges.-Stickstoff | | Rohprotein | | Fett | | Milchzucker | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | Proz. | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g |
| Ziege 1. | 1123 | 0,725 | 0,568 | 6,38 | 3,55 | 39,88 | 4,99 | 56,11 | 4,60 | 51,66 |
| „ 2. | 987 | 0,819 | 0,636 | 6,27 | 3,97 | 39,18 | 6,46 | 63,00 | 4,30 | 42,44 |
| „ 3. | 1456 | 0,697 | 0,581 | 8,45 | 3,63 | 52,81 | 4,07 | 59,21 | 4,75 | 69,16 |
| „ 4. | 1119 | 0,805 | 0,594 | 6,65 | 3,71 | 41,56 | 5,18 | 57,90 | 5,04 | 56,40 |
| „ 5. | 1009 | 0,841 | 0,534 | 5,38 | 3,33 | 33,63 | 4,70 | 47,43 | 4,14 | 41,77 |
| „ 6. | 1378 | 0,752 | 0,506 | 6,97 | 3,16 | 43,56 | 4,60 | 63,32 | 4,90 | 67,52 |

Die Milch erfuhr mit fortschreitender Lactation eine Zunahme an Fett und Trockensubstanzprozenten, während beim Rohprotein und Milchzucker kein einheitliches Anwachsen festzustellen ist; die Schwankungen liegen innerhalb des Analysenspielraums.

Die Durchschnittswerte betrugen für Trockensubstanz und Fett in der ersten Periode 12,17 und 3,44 Proz., in der siebenten Periode 13,87 und 5,00 Proz., für Rohprotein und Milchzucker in der ersten Periode 3,33 und 4,77 Proz., in der siebenten Periode 3,56 und 4,54 Proz.

*Tabelle XXIV.*

Periode VII. Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode.

| | Milchmenge | | | | | | Fettgehalt | | | | | | | | | | | | Stalltemperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | |
| | g | g | g | g | g | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | g | Grad |
| Mittel der Periode VI | **888** | **809** | **1202** | **973** | **810** | **1198** | **5,33** | **47,18** | **7,44** | **60,86** | **4,91** | **58,68** | **5,87** | **56,59** | **4,81** | **38,74** | **4,96** | **59,41** | **13,3** |
| 8. XI. | 1059 | 830 | 1405 | 1007 | 895 | 1302 | 4,80 | 50,83 | 8,05 | 66,82 | 4,25 | 59,71 | 6,00 | 60,42 | 4,55 | 40,72 | 4,75 | 61,85 | 13½ |
| 9. XI. | 1108 | 958 | 1450 | 1156 | 966 | 1339 | 4,80 | 53,18 | 6,85 | 65,62 | 3,85 | 55,83 | 4,90 | 56,64 | 3,90 | 37,67 | 4,40 | 58,92 | 14 |
| 10. XI. | 1139 | 962 | 1347 | 1128 | 988 | 1323 | 5,40 | 61,51 | 7,65 | 73,59 | 4,25 | 57,25 | 5,35 | 60,34 | 4,35 | 42,97 | 5,30 | 70,12 | 15 |
| 11. XI. | 1153 | 731 | 1451 | 1128 | 1003 | 1457 | 5,00 | 57,65 | 7,20 | 52,63 | 4,55 | 66,02 | 5,30 | 59,78 | 4,35 | 43,63 | 5,35 | 77,95 | 14 |
| 12. XI. | 1142 | 855 | 1388 | 1074 | 1008 | 1468 | 5,10 | 58,24 | 7,40 | 63,27 | 4,60 | 63,85 | 5,80 | 62,92 | 4,65 | 46,87 | 4,25 | 62,39 | 14 |
| 13. XI. | 1117 | 973 | 1363 | 1133 | 934 | 1419 | 4,85 | 54,17 | 7,30 | 71,03 | 4,20 | 57,25 | 5,30 | 60,05 | 4,70 | 43,43 | 5,20 | 59,17 | 14 |
| 14. XI. | 1130 | 963 | 1407 | 1117 | 982 | 1385 | 5,30 | 59,89 | 7,55 | 72,71 | 4,45 | 62,61 | 5,05 | 56,41 | 4,80 | 47,14 | 4,40 | 60,94 | 14 |
| Mittel des 1. Abschnitts | **1121** | **896** | **1402** | **1106** | **968** | **1385** | **5,03** | **56,49** | **7,43** | **66,52** | **4,31** | **60,36** | **5,53** | **59,51** | **4,47** | **45,35** | **4,81** | **64,48** | |
| 15. XI. | 1083 | 907 | 1494 | 1153 | 944 | 1512 | 5,20 | 56,32 | 7,25 | 65,76 | 4,15 | 62,00 | 4,95 | 57,07 | 5,10 | 48,14 | 4,90 | 74,09 | 13 |
| 16. XI. | 1140 | 933 | 1503 | 1149 | 1005 | 1369 | 4,95 | 56,45 | 6,80 | 63,44 | 3,93 | 59,37 | 4,55 | 52,28 | 5,30 | 53,27 | 4,40 | 60,24 | 14 |
| 17. XI. | 1121 | 875 | 1492 | 1152 | 1056 | 1422 | 4,50 | 50,45 | 6,85 | 59,94 | 3,63 | 54,46 | 5,15 | 59,33 | 4,95 | 52,27 | 4,85 | 68,97 | 14 |
| 18. XI. | 1082 | 992 | 1462 | 1035 | 987 | 1338 | 5,00 | 54,10 | 6,15 | 61,01 | 4,25 | 62,14 | 5,20 | 53,82 | 4,60 | 45,40 | 4,95 | 68,23 | 12½ |
| 19. XI. | 1117 | 1148 | 1485 | 1192 | 1080 | 1343 | 5,20 | 58,08 | 6,90 | 79,21 | 4,20 | 62,37 | 5,60 | 66,75 | 4,90 | 52,92 | 4,50 | 60,44 | 12½ |
| 20. XI. | 1148 | 1189 | 1510 | 1088 | 1016 | 1342 | 5,50 | 63,14 | 6,00 | 71,34 | 4,50 | 67,95 | 5,50 | 59,84 | 5,10 | 51,84 | 4,00 | 53,68 | 13½ |
| 21. XI. | 1112 | 1103 | 1482 | 1108 | 1012 | 1389 | 4,80 | 53,38 | 5,33 | 59,01 | 3,80 | 56,32 | 5,20 | 57,62 | 4,80 | 48,58 | 4,65 | 64,59 | 13 |
| Mittel des 2. Abschnitts | **1115** | **1021** | **1489** | **1125** | **1014** | **1388** | **5,02** | **55,99** | **6,47** | **65,67** | **4,07** | **60,66** | **5,17** | **58,10** | **4,97** | **50,33** | **4,61** | **64,03** | |
| 22. XI. | 1132 | 1072 | 1433 | 1106 | 1087 | 1297 | 4,80 | 54,34 | 5,10 | 54,67 | 3,85 | 55,17 | 5,20 | 57,51 | 4,80 | 52,18 | 3,80 | 49,29 | 13 |
| 23. XI. | 1168 | 1086 | 1508 | 1144 | 1022 | 1456 | 4,90 | 57,23 | 4,60 | 49,96 | 3,90 | 58,81 | 4,90 | 56,06 | 4,55 | 46,50 | 4,70 | 68,43 | 13½ |
| 24. XI. | 1166 | 1106 | 1523 | 1175 | 1069 | 1440 | 4,90 | 57,13 | 5,40 | 59,72 | 3,75 | 57,11 | 4,80 | 56,40 | 4,60 | 49,17 | 4,60 | 66,24 | 14 |
| 25. XI. | 1054 | 1063 | 1470 | 1142 | 1093 | 1395 | 4,80 | 50,59 | 4,85 | 51,56 | 3,55 | 52,19 | 4,85 | 55,39 | 4,70 | 51,37 | 4,30 | 59,99 | 14 |
| 26. XI. | 1158 | 1016 | 1482 | 1087 | 1014 | 1186 | 5,15 | 59,64 | 5,50 | 55,88 | 3,70 | 54,83 | 4,75 | 51,63 | 4,65 | 47,15 | 4,15 | 49,22 | 13½ |
| Mittel des 3. Abschnitts | **1136** | **1069** | **1483** | **1131** | **1057** | **1355** | **4,91** | **55,78** | **5,09** | **54,58** | **3,75** | **55,62** | **4,90** | **55,39** | **4,66** | **48,67** | **4,31** | **58,63** | |
| Mittel der Periode VII | **1123** | **987** | **1456** | **1119** | **1009** | **1378** | **4,99** | **56,11** | **6,46** | **63,00** | **4,07** | **59,21** | **5,18** | **54,90** | **4,70** | **47,48** | **4,60** | **63,32** | **13,5** |

*Tabelle XXIV* (Fortsetzung).

Periode VII. Erträge an Milch und Milchbestandteilen der Grundfutterperiode.

| Tag | Trockensubstanz, Ziege 1, Proz. | 1, g | 2, Proz. | 2, g | 3, Proz. | 3, g | 4, Proz. | 4, g | 5, Proz. | 5, g | 6, Proz. | 6, g | Körpergewicht, Ziege 1, kg | 2, kg | 3, kg | 4, kg | 5, kg | 6, kg | Stalltemperatur, Grad |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Mittel der Periode VI** | **14,40** | **128,6** | **16,81** | **145,4** | **14,45** | **168,8** | **15,05** | **149,9** | **18,68** | **110,9** | **18,79** | **164,9** | **42,52** | **39,07** | **89,08** | **87,80** | **86,54** | **86,02** | **18,8** |
| 8. XI. | 13,54 | 143,4 | 17,16 | 142,4 | 13,36 | 187,7 | 15,31 | 154,2 | 12,87 | 115,3 | 13,60 | 177,1 | 43,39 | 39,45 | 39,79 | 36,64 | 35,86 | 36,00 | 13 1/2 |
| 9. XI. | 13,81 | 153,0 | 12,90 | 123,6 | 13,18 | 191,1 | 14,55 | 168,2 | 12,67 | 122,4 | 13,73 | 183,8 | 43,00 | 40,24 | 39,65 | 37,16 | 36,22 | 36,45 | 14 |
| 10. XI. | 14,34 | 163,3 | 16,83 | 161,9 | 13,45 | 181,2 | 14,30 | 161,3 | 12,59 | 124,4 | 14,09 | 186,4 | 43,00 | 40,73 | 40,14 | 36,93 | 37,00 | 36,87 | 15 |
| 11. XI. | 13,59 | 156,7 | 16,74 | 122,4 | 13,72 | 199,1 | 14,47 | 163,2 | 12,43 | 124,7 | 13,88 | 202,2 | 44,12 | 40,50 | 40,40 | 37,40 | 37,30 | 37,86 | 14 |
| 12. XI. | 13,86 | 158,3 | 16,72 | 143,0 | 13,67 | 189,7 | 14,91 | 160,1 | 12,69 | 127,9 | 12,98 | 190,6 | 44,17 | 39,26 | 39,73 | 37,54 | 36,34 | 36,44 | 14 |
| 13. XI. | 13,61 | 152,0 | 16,29 | 158,5 | 13,41 | 182,7 | 14,57 | 165,1 | 12,93 | 120,7 | 13,98 | 198,4 | 44,00 | 40,62 | 39,80 | 39,00 | 36,93 | 37,11 | 14 |
| 14. XI. | 14,19 | 160,4 | 16,92 | 162,9 | 13,63 | 191,8 | 14,37 | 160,5 | 13,42 | 131,8 | 13,20 | 182,8 | 43,00 | 40,46 | 40,10 | 38,05 | 36,78 | 36,52 | 14 |
| **Mittel des 1. Abschnitts** | **18,85** | **155,8** | **16,22** | **144,9** | **18,49** | **189,0** | **14,64** | **161,8** | **18,09** | **128,9** | **18,64** | **188,7** | | | | | | | |
| 15. XI. | 14,29 | 154,8 | 16,93 | 153,6 | 13,55 | 202,4 | 14,29 | 164,8 | 13,79 | 130,2 | 13,82 | 209,0 | 42,64 | 40,28 | 40,20 | 38,14 | 36,27 | 57,05 | 13 |
| 16. XI. | 13,99 | 159,5 | 16,26 | 151,7 | 12,94 | 194,5 | 13,88 | 159,5 | 13,70 | 137,7 | 13,29 | 182,0 | 43,00 | 40,65 | 40,65 | 38,34 | 38,80 | 36,22 | 14 |
| 17. XI. | 13,41 | 150,3 | 16,18 | 141,6 | 12,81 | 191,1 | 14,15 | 163,0 | 13,38 | 141,3 | 13,83 | 196,7 | 42,61 | 40,53 | 39,70 | 38,10 | 36,84 | 36,15 | 14 |
| 18. XI. | 13,90 | 150,4 | 15,37 | 152,5 | 13,08 | 191,2 | 14,23 | 147,3 | 12,52 | 123,6 | 13,70 | 183,3 | 42,70 | 40,77 | 40,28 | 38,06 | 37,15 | 36,15 | 12 1/2 |
| 19. XI. | 13,50 | 150,8 | 15,26 | 175,2 | 12,38 | 183,8 | 14,31 | 170,6 | 13,27 | 143,3 | 12,80 | 171,9 | 42,20 | 41,10 | 40,33 | 37,61 | 37,27 | 36,32 | 12 1/2 |
| 20. XI. | 14,44 | 165,8 | 14,83 | 176,3 | 13,11 | 198,0 | 14,07 | 153,1 | 13,11 | 133,2 | 13,42 | 180,1 | 42,08 | 41,62 | 40,38 | 37,77 | 36,71 | 36,77 | 13 1/2 |
| 21. XI. | 13,73 | 152,7 | 14,97 | 165,9 | 12,80 | 189,7 | 14,18 | 157,1 | 13,14 | 133,0 | 13,44 | 186,7 | 42,00 | 41,26 | 40,50 | 38,00 | 36,74 | 36,36 | 13 |
| **Mittel des 2. Abschnitts** | **18,89** | **154,9** | **15,49** | **159,5** | **12,99** | **192,9** | **14,16** | **159,8** | **18,27** | **184,6** | **18,47** | **189,9** | | | | | | | |
| 22. XI. | 13,88 | 157,1 | 14,39 | 154,3 | 13,17 | 188,7 | 14,34 | 158,6 | 13,16 | 143,1 | 12,71 | 164,9 | 41,64 | 40,62 | 40,32 | 37,86 | 37,00 | 37,87 | 13 |
| 23. XI. | 13,54 | 158,2 | 13,53 | 146,9 | 12,99 | 195,9 | 13,80 | 157,9 | 13,11 | 134,0 | 13,23 | 192,6 | 42,20 | 41,15 | 40,45 | 38,56 | 37,27 | 36,31 | 13 1/2 |
| 24. XI. | 13,51 | 157,5 | 14,77 | 163,4 | 12,68 | 193,2 | 13,70 | 161,0 | 12,68 | 135,5 | 13,29 | 191,4 | 12,00 | 40,71 | 40,22 | 37,67 | 36,74 | 36,77 | 14 |
| 25. XI. | 14,23 | 150,0 | 14,39 | 153,0 | 12,70 | 186,7 | 13,52 | 154,4 | 12,67 | 138,5 | 12,90 | 179,9 | 42,00 | 40,10 | 40,23 | 37,42 | 37,00 | 36,56 | 14 |
| 26. XI. | 14,11 | 163,4 | 14,80 | 150,4 | 12,92 | 191,5 | 13,80 | 151,0 | 13,02 | 132,0 | 12,79 | 151,7 | 41,61 | 40,57 | 40,57 | 38,32 | 37,34 | 36,00 | 13 1/2 |
| **Mittel des 3. Abschnitts** | **18,85** | **157,8** | **14,88** | **158,6** | **12,89** | **191,2** | **18,85** | **156,6** | **12,98** | **186,6** | **18,05** | **176,1** | | | | | | | |
| **Mittel der Periode VII** | **18,86** | **156,7** | **15,54** | **152,6** | **18,14** | **191,1** | **14,25** | **159,5** | **18,01** | **181,2** | **18,41** | **184,8** | **42,71** | **40,56** | **40,18** | **37,82** | **86,98** | **86,62** | **18,5** |

Dies stimmt mit den Beobachtungen von *Hinchcliff*[1]), *G. Simon* und *A. Truntz*[2]) überein, nach denen der Gehalt an stickstoffhaltiger Substanz der Milch sich im Laufe der Lactation vom ersten bis zum neunten Monat nicht wesentlich ändert.

*Die hohen Trockensubstanz- und Fettprozentzahlen der Glykokollperiode wurden in der Schlußperiode nicht erreicht, so daß also diese Befunde nur durch eine spezifische Wirkung des Glykokolls zu erklären sind.* Wäre die Konzentrationszunahme auf eine geringere Wasserausscheidung zurückzuführen, so hätten das Rohprotein und der Milchzucker gleichermaßen erhöht sein müssen.

*Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Über die in Tabelle XXV, S. **343**, zusammengestellten Stoffwechselprodukte ist nicht viel zu sagen. Die Frischkotmengen bei Ziege 1 haben infolge der geringeren Futteraufnahme nachgelassen. Der Harnstickstoff hatte die normale Höhe. Der frische Kot besaß, wie in den übrigen Grundfutterperioden, eine etwas feuchtere Beschaffenheit. Die Kottrockensubstanz in Prozenten des Frischkotes betrug bei Ziege 1: 41,63, bei Ziege 2: 42,96, bei Ziege 3: 42,88, bei Ziege 6: 40,81 Proz. Aus der Kotuntersuchung (s. nachstehende Tabelle) berechnen sich dann die Verdauungskoeffizienten, welche in der Tabelle XXVI, S. **344**, zusammengestellt sind.

| | Ziege 1 | | Ziege 2 | | Ziege 3 | | Ziege 6 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut | Proz. | absolut |
| Trockensubstanz | 96,65 | 468,70 | 97,39 | 620,10 | 95,65 | 612,30 | 96,91 | 577,50 |
| Asche | 11,82 | 55,40 | 12,13 | 75,22 | 11,76 | 72,00 | 11,05 | 63,81 |
| Organische Substanz | 84,83 | 397,59 | 85,26 | 528,69 | 83,89 | 513,66 | 84,96 | 490,64 |
| Gesamt-N | 1,77 | 8,29 | 1,84 | 11,41 | 1,89 | 11,57 | 1,74 | 10,04 |
| Rohprotein | 11,50 | 53,90 | 11,50 | 71,31 | 11,81 | 72,31 | 10,87 | 62,77 |
| Reineiweiß | 10,56 | 49,49 | 10,63 | 65,91 | 11,25 | 68,88 | 9,88 | 57,05 |
| Amide | 0,94 | 4,41 | 0,87 | 5,40 | 0,56 | 3,43 | 0,99 | 5,72 |
| Rohfett | 2,44 | 11,44 | 2,96 | 18,35 | 2,88 | 17,63 | 2,90 | 16,74 |
| Rohfaser | 25,55 | 119,75 | 26,66 | 165,32 | 25,78 | 157,85 | 31,92 | 184,34 |
| N-freie Extraktstoffe | 45,34 | 212,51 | 44,14 | 273,71 | 43,42 | 265,86 | 39,27 | 226,78 |
| Pepsinunlösl. N | 1,09 | 5,11 | 1,14 | 7,07 | 1,19 | 7,28 | 1,10 | 6,34 |
| „ Rohprotein | 6,81 | 31,93 | 7,12 | 44,18 | 7,43 | 45,50 | 6,87 | 39,62 |

Es sei erwähnt, daß die Depression der Rohfaser aufgehoben (Ziege 1) oder doch gebessert wurde. Der Verdauungskoeffizient des Rohproteins und des Eiweißes war normal. Der Stärkewert war niedriger als in den anderen Grundfutterperioden, zumal bei Ziege 2.

| | Gewicht kg | Fett kg | Roh-faser kg | N-freie Extrakt-stoffe kg | Roh-protein kg | Eiweiß kg | Amide kg | Stärke-wert kg | Eiweiß-ver-hältnis | Milch-menge je 1000 kg kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 | 42,71 | 0,95 | 4,75 | 13,21 | 4,36 | **4,02** | 0,34 | **19,92** | 1 : 4,98 | **26,3** |
| „ 2 | 40,56 | 1,11 | 3,41 | 11,16 | 4,73 | **4,34** | 0,39 | **17,45** | 1 : 3,92 | **24,3** |
| „ 3 | 40,18 | 1,26 | 4,84 | 13,49 | 5,28 | **4,80** | 0,48 | **20,86** | 1 : 4,38 | **36,2** |
| „ 6 | 36,62 | 1,39 | 4,53 | 15,80 | 4,89 | **4,52** | 0,37 | **22,30** | 1 : 4,97 | **37,6** |
| | | | | | | | | | Mittel: | 31,1 |

[1]) Mitteilung des landw. Instituts der Universität Leipzig, siehe Kirchners Lehrbuch der Milchwirtschaft.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 516, 1901; **39**, 390, 1903.

*Tabelle XXV.*

Menge an Kot, Kottrockensubstanz, Harn und Gesamtharnstickstoff.

Periode VII.

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 1 | | | | Ziege 2 | | | | |
| Mittel der Periode VI | 1074 | 517,5 | 4650 | 20,32 | 1096 | 536,5 | 4290 | 21,30 | |
| 8. XI. | 1151 | 446,1 | 5430 | 20,35 | 1175 | 555,2 | 5320 | 28,31 | Vorperiode |
| 9. XI. | 1107 | 422,1 | 4940 | 20,92 | 1318 | 622,8 | 3460 | 20,55 | Vorperiode |
| 10. XI. | 1157 | 505,4 | 3920 | 19,71 | 1390 | 589,6 | 3920 | 19,54 | Vorperiode |
| 11. XI. | 1371 | 484,6 | 4330 | 20,12 | | fällt aus | | | Vorperiode |
| 12. XI. | 1323 | 561,2 | 4400 | 20,21 | 1023 | 442,3 | 2500 | 15,88 | Vorperiode |
| 13. XI. | 1173 | 489,2 | 4810 | 20,52 | 1683 | 712,5 | 2850 | 19,46 | |
| 14. XI. | 1273 | 562,2 | 4740 | 19,64 | 1248 | 501,3 | 3450 | 19,41 | |
| 15. XI. | 1133 | 543,6 | 3250 | 19,40 | 1558 | 635,0 | 3320 | 19,89 | |
| 16. XI. | 1234 | 541,5 | 5780 | 19,76 | 1446 | 556,5 | 3830 | 20,94 | |
| 17. XI. | 1298 | 512,9 | 3750 | 21,91 | 1103 | 475,8 | 2950 | 19,77 | |
| 18. XI. | 1211 | 531,8 | 5970 | 20,06 | 1748 | 775,7 | 4310 | 22,39 | |
| 19. XI. | 1015 | 432,2 | 4730 | 19,59 | 1445 | 625,1 | 3780 | 20,59 | |
| 20. XI. | 1163 | 386,4 | 5380 | 20,96 | 1592 | 758,6 | 2930 | 17,52 | |
| 21. XI. | 1102 | 451,2 | 4400 | 20,68 | 1490 | 630,9 | 3650 | 18,22 | |
| 22. XI. | 1195 | 407,1 | 5420 | 20,05 | 1485 | 637,4 | 3830 | 20,94 | |
| 23. XI. | 1008 | 457,6 | 5400 | 22,09 | 1563 | 649,1 | 3750 | 22,80 | |
| 24. XI. | 1145 | 483,8 | 3920 | 20,20 | 1611 | 730,1 | 4120 | 23,36 | |
| 25. XI. | 1180 | 510,5 | 3430 | 19,30 | 1471 | 633,3 | 3380 | 22,05 | |
| Mittel: | 1165 | 485,0 | 4691 | 20,32 | 1526 | 688,3 | 3920 | 20,31 | |
| | | | | Mittel: | 1482 | 636,7 | 3692 | 20,63 | |

| Tag | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn Ges.-N g | Kot frisch g | Kot trocken g | Harnmenge g | Harn Ges.-N g | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege 3 | | | | Ziege 6 | | | | |
| Mittel der Periode VI | 1250 | 585,5 | 3270 | 22,68 | 1131 | 543,5 | 2916 | 19,82 | |
| 8. XI. | 1560 | 582,5 | 2760 | 22,29 | 1182 | 508,4 | 2400 | 20,09 | Vorperiode |
| 9. XI. | 1632 | 657,7 | 3850 | 22,28 | 1392 | 616,8 | 1800 | 19,81 | Vorperiode |
| 10. XI. | 1590 | 594,5 | 3000 | 20,43 | 1364 | 630,9 | 3350 | 19,75 | Vorperiode |
| 11. XI. | 1495 | 649,0 | 3480 | 20,42 | 1237 | 575,2 | 1910 | 18,43 | Vorperiode |
| 12. XI. | 1592 | 595,2 | 5120 | 20,10 | 1617 | 663,8 | 1750 | 19,77 | Vorperiode |
| 13. XI. | 1600 | 702,9 | 3300 | 22,55 | 1525 | 630,4 | 1900 | 19,32 | |
| 14. XI. | 1388 | 604,4 | 2850 | 21,27 | 1420 | 541,4 | 2760 | 19,43 | |
| 15. XI. | 1435 | 645,9 | 3000 | 21,31 | 1442 | 589,5 | 1750 | 19,99 | |
| 16. XI. | 1477 | 646,4 | 3330 | 21,01 | 1467 | 580,6 | 2410 | 21,23 | |
| 17. XI. | 1510 | 658,1 | 3250 | 21,92 | 1450 | 579,2 | 1930 | 20,07 | |
| 18. XI. | 1600 | 696,5 | 3860 | 21,55 | 1547 | 584,1 | 2450 | 20,40 | |
| 19. XI. | 1500 | 636,9 | 3740 | 22,89 | 1418 | 632,0 | 2730 | 21,09 | |
| 20. XI. | 1500 | 634,1 | 2850 | 21,49 | 1457 | 632,0 | 2900 | 19,42 | |
| 21. XI. | 1440 | 558,7 | 3500 | 21,86 | 1559 | 629,7 | 2450 | 18,68 | |
| 22. XI. | 1487 | 657,7 | 2680 | 22,75 | 1532 | 624,8 | 2310 | 20,05 | |
| 23. XI. | 1470 | 626,5 | 4000 | 22,68 | 1408 | 630,0 | 3360 | 21,76 | |
| 24. XI. | 1452 | 651,2 | 2970 | 21,35 | 1402 | 530,6 | 1850 | 20,25 | |
| 25. XI. | 1369 | 624,8 | 2620 | 22,35 | 1421 | 636,7 | 1910 | 19,31 | |
| 26. XI. | 1525 | 620,5 | 2580 | 20,86 | — | — | — | — | |
| Mittel: | 1493 | 640,2 | 3166 | 21,84 | 1473 | 601,6 | 2285 | 20,00 | |

*Tabelle XXVI.*

Verwertung der Nährstoffe in Periode VII.

| | Gesamt-N | Aus Ges.-N des Kotes | | Aus Pepsin-HCl unlöslichem N | | Nach *Stutzer* | Amide | Rohfett | Roh-faser | N-freie Extrakt-stoffe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Roh-protein | Eiweiß | Roh-protein | Eiweiß | | | | | |
| | g | g | g | g | g | | g | g | g | g |
| **Ziege 1** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | | 21,18 | 57,31 | 377,60 | 870,67 |
| Ab Rest . . | 3,39 | 21,18 | 18,87 | 21,18 | 18,87 | | 2,31 | 5,46 | 54,67 | 94,04 |
| | 38,91 | 243,25 | 221,29 | 243,25 | 221,29 | | 18,87 | 51,85 | 322,93 | 776,63 |
| Im Kot . . | 8,29 | 51,81 | 49,49 | 31,93 | 31,93 | | 4,41 | 11,44 | 119,75 | 212,51 |
| Verdaut . . | 30,62 | 191,44 | 171,80 | 211,32 | 189,36 | 195,26 | 14,46 | 40,41 | 203,18 | 564,12 |
| Verdauungs-koeffizient . | 78,7 | 78,7 | 77,8 | 86,8 | 85,5 | 80,2 | 76,7 | 77,9 | 62,9 | 72,6 |
| **Ziege 2** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 44,79 | 279,57 | 256,96 | 279,57 | 256,96 | | 22,45 | 67,21 | 341,10 | 790,15 |
| Ab Rest . . | 2,67 | 16,33 | 14,85 | 16,33 | 14,85 | | 1,48 | 3,71 | 37,10 | 63,85 |
| | 42,12 | 263,24 | 242,11 | 263,24 | 242,11 | | 20,97 | 63,50 | 304,00 | 726,30 |
| Im Kot . . | 11,41 | 71,31 | 65,91 | 44,18 | 44,18 | | 5,40 | 18,35 | 165,32 | 273,71 |
| Verdaut . . | 30,71 | 191,93 | 176,20 | 219,06 | 197,98 | 212,59 | 15,57 | 45,15 | 138,68 | 452,59 |
| Verdauungs-koeffizient . | 72,9 | 72,9 | 72,7 | 83,2 | 81,7 | 80,7 | 74,2 | 71,1 | 45,6 | 62,3 |
| **Ziege 3** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 48,33 | 301,57 | 277,36 | 301,57 | 277,36 | | 24,05 | 72,19 | 391,28 | 874,95 |
| Ab Rest . . | 2,80 | 17,13 | 15,58 | 17,13 | 15,58 | | 1,55 | 3,89 | 38,95 | 66,99 |
| | 45,53 | 284,44 | 261,78 | 284,44 | 261,78 | | 22,50 | 68,30 | 352,33 | 807,96 |
| Im Kot . . | 11,57 | 72,31 | 68,88 | 45,50 | 45,50 | | 3,43 | 17,63 | 157,85 | 265,86 |
| Verdaut . . | 33,96 | 212,13 | 192,90 | 238,94 | 216,28 | 226,41 | 19,07 | 50,67 | 194,48 | 542,10 |
| Verdauungs-koeffizient . | 74,6 | 74,6 | 73,7 | 84,0 | 82,6 | 79,6 | 84,7 | 74,2 | 55,2 | 67,1 |
| **Ziege 6** | | | | | | | | | | |
| Einnahme . | 42,30 | 264,37 | 243,16 | 264,37 | 243,16 | | 21,18 | 57,31 | 377,60 | 870,67 |
| Ab Rest . . | 0,79 | 4,87 | 4,43 | 4,87 | 4,43 | | 0,44 | 1,10 | 11,07 | 19,14 |
| | 41,51 | 259,50 | 238,73 | 259,50 | 238,73 | | 20,74 | 56,21 | 366,53 | 851,63 |
| Im Kot . . | 10,04 | 62,77 | 57,05 | 39,62 | 39,62 | | 5,72 | 16,74 | 184,34 | 226,78 |
| Verdaut . . | 31,47 | 196,73 | 181,68 | 219,88 | 199,11 | 196,48 | 15,02 | 39,47 | 182,19 | 634,85 |
| Verdauungs-koeffizient . | 75,8 | 75,8 | 76,0 | 84,7 | 83,4 | 75,7 | 72,3 | 70,2 | 49,7 | 74,6 |

Dies rührt daher, daß das Körpergewicht im Vergleich zur Anfangsperiode um 3 kg zugenommen hat, infolgedessen fällt die Berechnung je 1000 kg niedriger aus. Eine Erhöhung des Körpergewichtes muß bei gleichbleibender Fütterung bei stetiger Abnahme der Milch naturgemäß eintreten, betrug doch die Milchmenge je 1000 kg in Periode 1 im Mittel der Ziegen 1. 2, 3, 6 52 kg gegen 31 kg der Periode VII.

Die Stickstoffbilanzen waren bei allen Tieren positiv.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 6 |
|---|---|---|---|---|
| N im Futter . . . . | 38,91 | 42,12 | 45,53 | 41,51 |
| N im Kot . . . . . | 8,29 | 11,41 | 11,57 | 10,04 |
| Verdaut . . . . . . | 30,62 | 30,71 | 33,96 | 31,47 |
| Davon im Harn . . | 20,32 | 20,63 | 21,84 | 20,00 |
| in der Milch . . . | 6,38 | 6,27 | 8,45 | 6,97 |
| Summe . . . . . . . | 26,70 | 26,90 | 30,29 | 26,97 |
| Ansatz . . . . . . . | 3,92 | 3,81 | 3,67 | 4,50 |
| Gewichtszunahme je Tag . . . . . . . | 10 g | 78 g | 57 g | 31 g |

Versuche ich nun, mit Hilfe der beiden die Glykokollperiode einschließenden Grundfutterperioden die positiven Bilanzen der Ersatzperiode nachzuprüfen, so erhalte ich folgende Werte:

Es wurden angesetzt bei

| | In Periode V | In Periode VII | Mittel | In Periode VI | Also + oder — |
|---|---|---|---|---|---|
| Ziege 1 . | + 5,51 | + 3,92 | + 4,71 | + 3,42 | — 1,29 |
| „ 2 . | + 3,53 | + 3,81 | + 3,67 | + 4,46 | + 0,79 |
| „ 3 . | + 5,98 | + 3,67 | + 4,82 | + 2,95 | — 1,87 |
| „ 6 . | + 4,72 | + 4,50 | + 4,61 | + 1,06 | — 2,35 |

*Das Glykokoll hat demnach im Vergleich zu dem eiweißreichen Grundfutter nur in einem Falle den Ansatz befördert, in allen anderen Fällen ist trotz scheinbarer positiver Bilanzen ein Verlust zu verzeichnen.*

### *Wirkung der Ersatzfuttermittel auf den Ertrag an Milch und Milchbestandteilen unter Ausschaltung der Lactation.*

Wenn ich nach diesen Einzelbesprechungen versuchen will, mir ein Gesamtbild von der Wirkung der nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen auf die Milch und deren Zusammensetzung zu verschaffen, so ist es nötig, den Einfluß der fortschreitenden Lactation durch Anbringen der erforderlichen Korrekturen, die man bei dem vorliegenden Versuche aus Anfangs- und Schlußperiode oder — da jede Ersatzperiode von zwei Grundfutterperioden eingeschlossen war — aus diesen beiden benachbarten Grundfutterperioden wählen kann, auszuschalten. In der Schlußperiode blieben größere Futterreste zurück, die die Ergebnisse beeinträchtigen konnten, so daß ich davon Abstand nahm, die Korrekturen durch Berechnung aus Anfangs- und Schlußperiode anzubringen, um nicht die nachteiligen Folgen auf alle Perioden zu übertragen. Die Berechnung geschah demnach so, daß für Periode II die Perioden I und III zugrunde gelegt wurden, für Periode IV die Perioden III und V und für die Periode VI die Perioden V und VII. Die Korrektur wurde in bekannter Weise ermittelt und von dem Ergebnis der Periode I bzw. III bzw. V abgezogen (s. Tabelle XXVII, S. 346/347, „Berechnete Erträge"). *Morgen*[1]) hat in scharfsinniger Weise dargelegt, daß die bisher gebräuchlichen Verfahren der Depressionsberechnung keinen zutreffenden Ausdruck für die Wirkung des Futters geben, falls es sich darum handelt, sich über die Intensität der Wirkung, auf welche es in diesem

[1]) L. V. St. 77, 351, 1912.

Tatsächliche Erträge an

| | Milchmenge | | | | | | Fett | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ziege | | | | | | Ziege | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Grundfutter | 1992 | 1683 | 2503 | 1314 | 1425 | 1951 | 67,33 | 66,04 | 63,88 | 49,84 | [illegible] |
| Harnstoff, kleine Gabe | 1465 | 1463 | 2029 | 1181 | 1170 | 1860 | 52,86 | 58,24 | 59,19 | 49,02 | [illegible] |
| Grundfutter | 1207 | 1402 | 1902 | 1188 | 1151 | 1746 | 43,61 | 60,24 | 54,24 | 49,87 | [illegible] |
| Harnstoff, große Gabe | 874 | 1136 | 1678 | 953 | 890 | 1559 | 35,77 | 52,52 | 53,46 | 44,89 | [illegible] |
| Grundfutter | 833 | 1197 | 1664 | 1144 | 886 | 1458 | 36,76 | 67,63 | 59,26 | 59,10 | [illegible] |
| Glykokoll | 888 | 809 | 1202 | 977 | 810 | 1198 | 47,18 | 60,86 | 58,68 | 56,59 | [illegible] |
| Grundfutter | 1123 | 987 | 1456 | 1119 | 1009 | 1378 | 56,11 | 63,00 | 59,21 | 57,90 | [illegible] |

Berechnete Erträge an Milch und Milchbestandteilen unter

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Periode I und III | 1992 | 1683 | 2503 | 1314 | 1425 | 1951 | 67,33 | 66,04 | 63,88 | 49,84 | [illegible] |
| „ II | 1546 | 1524 | 2162 | 1242 | 1269 | 1855 | 53,88 | 62,73 | 58,41 | 49,86 | [illegible] |
| „ III und V | 1207 | 1402 | 1902 | 1188 | 1151 | 1746 | 43,61 | 60,24 | 54,24 | 49,87 | [illegible] |
| „ IV | 1023 | 1302 | 1785 | 1166 | 1020 | 1605 | 40,26 | 64,01 | 56,80 | 54,74 | [illegible] |
| „ V und VII | 833 | 1197 | 1664 | 1144 | 886 | 1458 | 36,76 | 67,63 | 59,26 | 59,10 | [illegible] |
| „ VI | 977 | 1004 | 1564 | 1125 | 843 | 1398 | 46,14 | 65,69 | 59,23 | 58,60 | [illegible] |

Bemerkung: Von der Mitte der I. Periode bis zur Mitte der III. Periode = 40,5 Tage
Ziege 1, 2, 3, 4, 5 oder 56,7 Proz. des zuerst gefundenen Betrages, 15,5 Tage bei Ziege 6 = 46,9
der III. Periode bis zur Mitte der IV. Periode = 24,5 oder 49 Proz. des vorigen Betrages. Von
V. Periode bis zur Mitte der VI.

Nach der Depression korrigierte Zahlen aus

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Grundfutter I und III | 1992 | 1683 | 2503 | 1314 | 1425 | 1951 | 67,33 | 66,04 | 63,88 | 49,84 | [illegible] |
| Harnstoff, kleine Gabe II | 1888 | 1616 | 2349 | 1250 | 1314 | 1956 | 66,06 | 61,31 | 64,73 | 49,00 | [illegible] |
| Grundfutter III und V | 1207 | 1402 | 1902 | 1188 | 1151 | 1746 | 43,61 | 60,24 | 54,24 | 49,57 | [illegible] |
| Harnstoff, große Gabe IV | 1032 | 1223 | 1788 | 971 | 1004 | 1696 | 38,75 | 49,42 | 51,05 | 40,90 | [illegible] |
| Grundfutter V und VII | 833 | 1197 | 1664 | 1144 | 886 | 1458 | 36,76 | 67,63 | 59,26 | 59,10 | [illegible] |
| Glykokoll | 740 | 965 | 1309 | 994 | 851 | 1249 | 37,60 | 62,66 | 58,71 | 57,07 | [illegible] |

Versuch ankam, eine Vorstellung zu machen. Die berechneten Erträge müssen noch in Beziehung gebracht werden zu dem höchstmöglichen Ertrag der vorangegangenen Grundfutterperiode. Die so gefundenen Werte werden zum Unterschied von den berechneten nach *Morgen* „korrigierte“ Zahlen genannt.

Vergleiche ich nun die korrigierten Werte mit den gefundenen, so entspricht der Unterschied in den Erträgen der Wirkung des Ersatzfuttermittels. Die einzelnen Zahlen sind als Differenzwerte in der Übersichtstabelle XXVIII, S. 348, zusammengestellt.

*Wirkung auf Menge und Zusammensetzung der Milch.*

1. *Menge.* Wenn man die so erhaltenen Differenzzahlen miteinander vergleicht, so gewinnt man nicht den Eindruck, als ob die Ersatzstoffe günstig auf die Milch und deren Komponenten gewirkt hätten. Die Milchmenge sank in Periode II bei den Ziegen 1 und 3 ganz beträchtlich, besonders bei Ziege 1, unter den berechneten Stand. Insgesamt wurden von den sechs Tieren 595 g Milch (im Durchschnitt 99,2 g) weniger ausgeschieden als es der Fall gewesen wäre, wenn die Lactation ausgeschaltet worden wäre. Schlechter wird das Ergebnis in Periode IV, hier wurden sogar 882 g insgesamt, im Durchschnitt 147 g Milch weniger abgesondert. Diese Zahlen fallen um so schwerer ins Gewicht als für die Berechnung für die Periode IV die beiden Grundfutterperioden III und V benutzt wurden, in denen weniger Milch erzeugt wurde. Noch niedriger fielen die Werte in der Glykokollperiode aus, hier betrug die Einbuße sogar 996 g,

*VII.*

deren Bestandteilen.

| Trockensubstanz | | | | | Rohprotein (N 6,25) | | | | | | Proz. Fettgehalt der Trockensubstanz | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege | | | | | Ziege | | | | | | Ziege | | | | | |
| 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 218,0 | 277,3 | 167,8 | 172,8 | 233,4 | 58,75 | 50,81 | 79,62 | 42,18 | 43,31 | 57,18 | 28,29 | 30,29 | 23,04 | 29,88 | 29,82 | 29,87 |
| 190,7 | 242,0 | 150,6 | 146,0 | 228,2 | 46,93 | 48,18 | 65,43 | 38,25 | 37,25 | 52,81 | 29,05 | 30,54 | 24,46 | 32,55 | 31,94 | 29,48 |
| 188,5 | 227,5 | 155,8 | 147,1 | 214,7 | 43,25 | 47,56 | 66,06 | 41,56 | 37,81 | 50,18 | 29,09 | 31,96 | 23,84 | 32,00 | 31,58 | 30,04 |
| 156,6 | 210,0 | 134,7 | 119,5 | 186,8 | 29,37 | 32,06 | 64,18 | 32,56 | 30,50 | 41,00 | 31,41 | 33,54 | 25,43 | 33,33 | 30,56 | 29,17 |
| 175,8 | 217,0 | 167,7 | 117,2 | 192,0 | 31,93 | 45,18 | 62,81 | 44,87 | 30,38 | 45,44 | 32,47 | 38,47 | 27,31 | 35,24 | 34,22 | 33,30 |
| 145,4 | 168,8 | 149,9 | 110,9 | 164,9 | 32,93 | 30,75 | 43,88 | 38,44 | 28,69 | 38,88 | 38,17 | 41,86 | 34,76 | 37,75 | 34,93 | 36,03 |
| 152,6 | 191,1 | 159,5 | 131,2 | 184,8 | 39,88 | 39,18 | 52,81 | 41,56 | 33,63 | 43,56 | 35,80 | 41,28 | 30,28 | 36,30 | 36,15 | 34,26 |

tigung der fortschreitenden Laktation aus benachbarten Perioden.

| Trockensubstanz 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Rohprotein 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Fettgehalt 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 218,0 | 277,3 | 167,8 | 172,8 | 233,4 | 58,75 | 50,81 | 79,62 | 42,18 | 43,31 | 57,18 | 28,29 | 30,29 | 23,04 | 29,88 | 29,82 | 29,87 |
| 201,3 | 249,1 | 161,0 | 158,2 | 224,6 | 49,97 | 48,96 | 71,93 | 41,83 | 40,20 | 53,90 | 28,65 | 31,16 | 23,45 | 30,97 | 30,76 | 29,95 |
| 188,5 | 227,5 | 155,8 | 147,1 | 214,7 | 43,25 | 47,56 | 66,06 | 41,56 | 37,81 | 50,18 | 29,09 | 31,96 | 23,84 | 32,00 | 31,58 | 30,04 |
| 182,3 | 222,4 | 161,5 | 132,4 | 203,5 | 37,71 | 46,40 | 64,45 | 43,25 | 34,17 | 47,86 | 31,23 | 35,11 | 25,54 | 33,90 | 32,74 | 31,58 |
| 175,8 | 217,0 | 167,7 | 117,2 | 192,0 | 31,93 | 45,18 | 62,81 | 44,87 | 30,38 | 45,44 | 32,47 | 38,47 | 27,31 | 35,24 | 34,22 | 33,30 |
| 164,1 | 204,5 | 164,3 | 125,3 | 189,0 | 35,78 | 42,67 | 58,00 | 43,48 | 32,07 | 44,65 | 32,95 | 40,03 | 29,64 | 35,67 | 35,40 | 33,69 |

, 33 Tage bei Ziege 6. Von der Mitte der I. Periode bis zur Mitte der II. Periode = 23 Tage bei
Mitte der III. Periode bis zur Mitte der V. Periode = 50 Tage bei allen Ziegen von der Mitte
. Periode bis zur Mitte der VII. Periode = 39,5 Tage bei allen Ziegen von der Mitte der 19 Tage
8,1 Proz. des vorigen Betrages.

en Perioden (nach *Morgen*, L. V. St. 77, 351 1912).

| Trockensubstanz 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Rohprotein 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Fettgehalt 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 218,0 | 277,3 | 167,8 | 172,8 | 233,4 | 58,75 | 50,81 | 79,62 | 42,18 | 43,31 | 57,18 | 28,29 | 30,29 | 23,04 | 29,88 | 29,82 | 29,87 |
| 206,5 | 269,4 | 156,9 | 159,5 | 237,6 | 55,18 | 50,00 | 72,43 | 38,57 | 40,13 | 56,01 | 28,68 | 29,69 | 24,03 | 31,23 | 30,95 | 29,35 |
| 188,5 | 227,5 | 155,8 | 147,1 | 214,7 | 43,25 | 47,56 | 66,06 | 41,56 | 37,81 | 50,18 | 29,09 | 31,96 | 23,84 | 32,00 | 31,58 | 30,04 |
| 161,9 | 215,0 | 129,9 | 132,8 | 197,1 | 33,68 | 32,86 | 63,73 | 31,29 | 33,75 | 42,99 | 29,92 | 30,53 | 23,75 | 31,49 | 29,47 | 27,77 |
| 175,8 | 217,0 | 167,7 | 117,2 | 192,0 | 31,93 | 45,18 | 62,81 | 44,87 | 30,38 | 45,44 | 32,47 | 38,47 | 27,31 | 35,24 | 34,22 | 33,30 |
| 155,8 | 179,1 | 153,0 | 103,8 | 167,5 | 29,40 | 32,56 | 47,52 | 39,67 | 27,18 | 35,27 | 35,94 | 40,20 | 32,78 | 37,31 | 33,74 | 35,62 |

im Durchschnitt 160 g. Die Erträge der einzelnen Ersatzperioden dürfen nicht untereinander verglichen werden, da ja für die Berechnung der Ersatzperioden jeweils andere Milchmengen zugrunde gelegt wurden.

2. *Fett.* Die Fettmenge war in allen Ersatzperioden niedriger. Am stärksten war der Unterschied in der Periode IV, am geringsten in der Periode II bei einer kleinen Harnstoffgabe. Auch das Glykokoll wirkte nur auf den prozentigen Gehalt an Fett, während die absoluten Fettmengen, auf die es bei der Beurteilung vor allem ankommt, eine Minuswirkung zu verzeichnen haben. Im Durchschnitt betrug der Minderfettertrag in der Periode II 1,25 g, in Periode IV 6,73 g und in Periode VI 2,62 g.

3. *Trockensubstanz.* Die verfütterten Ersatzstoffe bewirkten in allen Perioden einen bedeutenden Verlust an Milchtrockensubstanz, der sich am stärksten in Periode IV und VI ausprägte. Im Durchschnitt wurden in Periode II 7,8 g, in Periode IV 21,1 g, in Periode VI 19,7 g weniger ausgeschieden.

4. *Wirkung auf die Qualität der Milch. Harnstoff in kleiner Gabe, besonders aber das Glykokoll, haben qualitätsverbessernd gewirkt.*

Anschaulicher wird die Beeinflussung des Milchertrages im Vergleich zum Grundfutter durch die Verhältniszahlen, welche die Veränderung in der Futterwirkung in Prozenten des Grundfutters angeben, dargestellt (Tabelle XXIX, S. 349). Die Verhältniszahlen wurden aus den korrigierten Zahlen berechnet.

In der Tabelle wurden neben den Mittelzahlen auch die höchsten und niedrigsten Werte angeführt.

*Tabelle XXVIII.*

Wirkung der Futterveränderungen nach den korrigierten Differenzzahlen.

| | Ziege 1 | Ziege 2 | Ziege 3 | Ziege 4 | Ziege 5 | Ziege 6 | Summe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. auf Milchmenge** | | | | | | | |
| Harnstoff, kl. Gabe | — 104 | — 67 | — 154 | — 164 | — 111 | + 5 | — 595 |
| „ gr. Gabe | — 175 | — 179 | — 114 | — 217 | — 147 | — 50 | — 882 |
| Glykokoll .... | — 81 | — 232 | — 255 | — 150 | — 35 | — 209 | — 962 |
| **2. auf die Fettmenge.** | | | | | | | |
| Harnstoff, kl. Gabe | — 1,27 | — 4,73 | + 0,95 | — 0,84 | — 2,15 | + 0,02 | — 7,52 |
| „ gr. Gabe | — 4,86 | —10,82 | — 3,19 | — 8,97 | — 7,32 | — 5,25 | —40,41 |
| Glykokoll .... | + 1,12 | — 4,87 | — 0,55 | — 2,03 | — 5,08 | — 4,29 | —17,94 |
| **3. auf die Trockensubstanz.** | | | | | | | |
| Harnstoff, kl. Gabe | — 7,7 | —11,5 | — 7,9 | —10,9 | —13,3 | + 4,2 | — 47,1 |
| „ gr. Gabe | —20,4 | —26,6 | —12,5 | —25,9 | —14,3 | —27,6 | —127,3 |
| Glykokoll .... | — 7,7 | —20,0 | —37,9 | —14,7 | —13,4 | —24,5 | —118,2 |
| **4. auf Rohprotein.** | | | | | | | |
| Harnstoff, kl. Gabe | — 3,57 | — 0,81 | — 6,19 | — 3,61 | — 3,18 | — 1,17 | —18,53 |
| „ gr. Gabe | — 9,57 | —14,70 | — 2,33 | —10,27 | — 4,06 | — 7,19 | —48,12 |
| Glykokoll .... | — 2,74 | —12,62 | —14,29 | — 5,20 | — 3,20 | —10,17 | —48,22 |
| **5. auf den proz. Fettgehalt der Trockensubstanz.** | | | | | | | |
| Harnstoff, kl. Gabe | + 0,39 | — 0,60 | + 0,99 | + 1,35 | + 1,13 | — 0,52 | + 2,74 |
| „ gr. Gabe | + 0,83 | — 1,43 | — 0,09 | — 0,51 | — 2,11 | — 2,27 | — 5,58 |
| Glykokoll .... | + 3,47 | + 1,73 | + 5,47 | + 2,07 | — 0,48 | + 2,32 | +14,58 |

Veränderungen des Körpergewichts in den einzelnen Perioden.

| | Ziege 1 kg | Ziege 2 kg | Ziege 3 kg | Ziege 4 kg | Ziege 5 kg | Ziege 6 kg |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Anfangsgewicht in Periode I ...... | 41,04 | 37,00 | 37,62 | 41,33 | 36,58 | 35,00 |
| Grundfutter ...... | 41,59 | 37,74 | 39,40 | 39,51 | 36,76 | 35,62 |
| Harnstoff, kleine Gabe | 40,51 | 37,87 | 39,06 | 38,47 | 36,57 | 34,80 |
| Grundfutter ...... | 41,47 | 39,07 | 40,00 | 38,78 | 36,47 | 35,48 |
| Harnstoff, große Gabe | 41,02 | 38,54 | 38,91 | 37,68 | 35,66 | 35,22 |
| Grundfutter ...... | 42,50 | 40,30 | 39,79 | 39,02 | 36,17 | 36,62 |
| Glykokoll ....... | 42,52 | 39,07 | 39,08 | 37,82 | 36,54 | 36,02 |
| Grundfutter ...... | 42,71 | 40,56 | 40,18 | 37,82 | 36,93 | 36,62 |
| **Wirkung der veränderten Fütterungsweise im Vergleich zur vorhergehenden Periode.** | | | | | | |
| Zunahme gegen Anfangsgewicht in Periode I | | | | | | |
| Grundfutter ...... | + 0,55 | + 0,74 | + 1,78 | — 1,82 | + 0,18 | + 0,62 |
| Harnstoff, kleine Gabe | — 1,08 | + 0,13 | — 0,34 | — 1,14 | — 0,19 | — 0,82 |
| Grundfutter ...... | + 0,96 | + 1,20 | + 0,94 | + 0,31 | — 0,10 | + 0,68 |
| Harnstoff, große Gabe | — 0,45 | — 0,53 | — 1,09 | — 1,10 | — 0,81 | — 0,26 |
| Grundfutter ...... | + 1,48 | + 1,76 | + 0,88 | + 1,34 | + 0,51 | + 1,40 |
| Glykokoll ....... | + 0,02 | — 1,23 | — 0,71 | — 1,20 | + 0,37 | — 0,60 |
| Grundfutter ...... | + 0,19 | + 1,49 | + 1,10 | ± 0 | + 0,39 | + 0,60 |

*Tabelle XXIX.*
Verhältniszahlen.

| | Milchmenge | Fett | Trockensubstanz | Fettgehalt der Trockensubstanz | Rohprotein |
|---|---|---|---|---|---|
| | *Periode II.* Ertrag durch Harnstoff (kleine Gabe) in Prozenten des Grundfutters aus benachbarten Perioden nach der Depression berechnet. | | | | |
| Ziege 1 . . | 94,76 | 98,11 | 96,76 | 101,40 | 93,92 |
| „ 2 . . | 96,02 | 92,84 | 94,72 | 98,02 | 98,52 |
| „ 3 . . | 93,85 | 101,00 | 97,15 | 103,90 | 90,97 |
| „ 4 . . | 95,13 | 98,32 | 93,51 | 105,10 | 91,44 |
| „ 5 . . | 92,21 | 95,83 | 92,31 | 103,80 | 92,66 |
| „ 6 . . | 100,20 | 100,00 | 101,80 | 98,23 | 97,96 |
| Mittel . . . | **95,35** | **97,68** | **96,04** | **101,74** | **94,25** |
| Maximum . | 100,00 | 101,00 | 101,80 | 105,10 | 98,52 |
| Minimum . | 92,21 | 92,84 | 92,31 | 98,02 | 90,97 |
| | *Periode IV.* Ertrag durch Harnstoff (große Gabe) in Prozenten des Grundfutters. | | | | |
| Ziege 1 . . | 85,50 | 88,86 | 86,39 | 102,90 | 77,87 |
| „ 2 . . | 87,23 | 80,17 | 85,89 | 93,34 | 69,10 |
| „ 3 . . | 94,01 | 94,12 | 94,51 | 99,59 | 96,47 |
| „ 4 . . | 81,74 | 82,01 | 83,38 | 98,36 | 75,28 |
| „ 5 . . | 87,23 | 84,25 | 90,28 | 93,32 | 89,26 |
| „ 6 . . | 97,14 | 84,79 | 91,81 | 92,35 | 85,77 |
| Mittel . . . | **88,81** | **85,70** | **88,38** | **96,64** | **82,29** |
| Maximum . | 97,14 | 94,12 | 94,51 | 102,90 | 96,47 |
| Minimum . | 81,74 | 82,01 | 83,38 | 92,35 | 69,10 |
| | *Periode VI.* Ertrag durch Glykokoll in Prozenten des Grundfutters. | | | | |
| Ziege 1 . . | 90,28 | 103,10 | 93,19 | 110,7 | 91,33 |
| „ 2 . . | 80,62 | 92,65 | 88,63 | 104,6 | 72,07 |
| „ 3 . . | 78,67 | 99,07 | 82,54 | 120,0 | 75,66 |
| „ 4 . . | 86,89 | 96,57 | 91,23 | 105,9 | 88,41 |
| „ 5 . . | 96,05 | 87,33 | 88,57 | 98,60 | 89,47 |
| „ 6 . . | 85,66 | 93,29 | 87,24 | 107,0 | 77,62 |
| Mittel . . . | **86,35** | **95,33** | **88,53** | **106,1** | **82,42** |
| Maximum . | 96,05 | 103,10 | 93,19 | 120,0 | 91,33 |
| Minimum . | 78,67 | 87,33 | 87,54 | 98,60 | 72,07 |

Ein Ersatz von rund 20 Proz. des Reineiweiß durch Harnstoff (Berechnung siehe Tabelle XXX, S. 350) lieferte einen Ertrag an Trockensubstanz von im Mittel 96 Proz. desjenigen des Grundfutters; bei einem Ersatz von 34 Proz. des Reineiweiß durch Harnstoff verringerte sich die Produktion auf 88 Proz. Glykokoll bei einem Ersatz von 38 Proz. des Reineiweiß verhielt sich ebenso. Milchmenge und Trockensubstanz gaben die gleichen Verhältniszahlen. Der Unterschied ist mithin nicht auf eine Konzentrationsänderung zurückzuführen. Dagegen sind die Fettzahlen in Periode II und VI höher als die Trockensubstanzwerte. Es kann sich hier nur um eine besondere Wirkung handeln.



Stellt man die Zahlen dazu in Vergleich, welche *Morgen*[1]) in den Jahren 1918 bis 1921 bei einem Ersatz von 30 bis 40 Proz. des Reineiweiß durch Harnstoff erhalten hat:

| Milchmenge | Fett | Trockensubstanz | Fettgehalt der Trockensubstanz | Rohprotein |
|---|---|---|---|---|
| 84 | 102 | 91 | 112 | 91 |

so ergibt sich eine ähnliche Wirkung. In den Versuchen *Morgens* ist die Wirkung auf den Fettgehalt günstiger, es wurde weniger Eiweiß und Stärkewert verfüttert, eine Wirkung war daher eher zu erwarten.

*Tabelle XXX.*

Prozentiger Ersatz des Reineiweiß durch Harnstoff in Periode II.

| Ziege | | ersetzt | | | von | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege | 1 | ersetzt | 46,18 g | Reineiweiß | von | 243,2 g | Ges.-Reineiweiß | = 19,0 | Proz. |
| „ | 2 | „ | 46,18 g | „ | „ | 257,0 g | „ | = 17,9 | „ |
| „ | 3 | „ | 46,18 g | „ | „ | 277,4 g | „ | = 16,7 | „ |
| „ „ | 4} 5} | „ | 46,18 g | „ | „ | 202,4 g | „ | = 22,8 | „ |
| „ | 6 | „ | 46,18 g | „ | „ | 243,2 g | „ | = 19,0 | „ |
| | | | | | | | Mittel | 19,70 | Proz. |

Periode IV.

| Ziege | | ersetzt | | | von | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege | 1 | ersetzt | 78,87 g | Reineiweiß | von | 243,2 g | Ges.-Reineiweiß | = 32,2 | Proz. |
| „ | 2 | „ | 78,87 g | „ | „ | 257,0 g | „ | = 30,7 | „ |
| „ | 3 | „ | 78,87 g | „ | „ | 277,4 g | „ | = 28,4 | „ |
| „ „ | 4} 5} | „ | 78,87 g | „ | „ | 202,4 g | „ | = 38,9 | „ |
| „ | 6 | „ | 78,87 g | „ | „ | 243,2 g | „ | = 33,2 | „ |
| | | | | | | | Mittel | 33,9 | Proz. |

Prozentiger Ersatz des Reineiweiß durch Glykokoll in Periode VI.

| Ziege | | ersetzt | | | von | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ziege | 1 | ersetzt | 89,45 g | Reineiweiß | von | 243,2 g | Ges.-Reineiweiß | = 36,81 | Proz. |
| „ | 2 | „ | 89,45 g | „ | „ | 257,0 g | „ | = 34,81 | „ |
| „ | 3 | „ | 89,45 g | „ | „ | 277,4 g | „ | = 32,25 | „ |
| „ „ | 4} 5} | „ | 89,45 g | „ | „ | 202,4 g | „ | = 44,19 | „ |
| „ | 6 | „ | 89,45 g | „ | „ | 243,2 g | „ | = 36,81 | „ |
| | | | | | | | Mittel | 38,07 | Proz. |

In der Tabelle XXXI, S. 351, ist die Wirkung der künstlichen Stickstoffverbindungen auf das Einheitskörpergewicht von 1000 kg bezogen. Den gefundenen Erträgen an Milch und deren Bestandteilen wurden die aus benachbarten Perioden berechneten gegenübergestellt. Die Zahlen stellen die mittleren Werte aus den Einzelergebnissen der vier Tiere 1, 2, 3, 6 dar. Neben dem Eiweißverhältnis ist das Rohnährstoffverhältnis, welches die künstlichen Stickstoffverbindungen mit einschließt, angeführt. *Falls man die Amide den Eiweißstoffen zuzählen würde, müßte bei annähernd unverändert gebliebenem Eiweißverhältnis in den Ersatzfutterperioden die gleiche Wirkung zu erwarten gewesen sein.* Die Zusammenstellung besagt nichts Neues; sie gibt zu erkennen, *daß Harnstoff und Glykokoll nicht als vollwertiger Ersatz des Eiweiß anzusprechen sind.* Es wäre noch in Betracht

[1]) L. V. St. 99, 1 und 359, 1922.

zu ziehen, für die spezifische Wirkung des Glykokolls auf den prozentigen Fettgehalt der Milch eine Erklärung zu finden. Die Wirkung weicht offenbar von der des Harnstoffs ab. Allgemein wird angenommen, daß der Harnstoff nach seiner Hydrolyse in Ammoniak durch die Pansenbakterien in sogenanntes Bakterieneiweiß umgewandelt wird; dieses vermag in gewissem Umfange Futtereiweiß zu sparen und an der Milchbildung teilzunehmen, wie dies schon längst für Ammonverbindungen [1]) bekannt ist. Es ist möglich, daß Glykokoll in demselben Sinne der Bakterientätigkeit anheimfällt. Die Befunde von *John R. Murlin* [2]) mit Gelatine und Glykokoll an Carnivoren, wonach fast aller zugeführte Stickstoff wieder ausgeschieden wurde, und dieser Versuch an Wiederkäuern, wobei das Glykokoll vom Organismus verwertet wurde, kann als Beweis der *Zuntz*schen Hypothese betrachtet werden. *Murlin* zieht ebenso wie *Lüthje* [3]) die Bildung von Aminozucker in Betracht. Neuerdings berichten *S. Kostyschew* und *W. Brilliant* [4]) über die Synthese stickstoffhaltiger, durch Kupferhydroxyd nach *Stutzer* fällbarer Stoffe aus Glykokoll und Traubenzucker bei Gegenwart von Hefeautolysat. Die Bildung findet auch spontan aus Aminosäuren und Zucker statt. Diese Versuche würden die Annahme einer Bildung von Bakterieneiweiß aus Glykokoll zulassen. Doch wäre auch eine andere Möglichkeit in Betracht zu ziehen. Es liegen nämlich Versuche über das Verhalten von Eiweiß-

*Tabelle XXXI.*

In den einzelnen Perioden *gefundene* und *berechnete* Erträge an Milchmenge, Trockensubstanz und Fett bezogen auf 1000 kg Lebendgewicht (mittlere Werte der Tiere 1, 2, 3, 6).

| | Eiweiß-verhältnis 1: | Rohnährstoff-verhältnis 1: | Milchmenge gefunden kg | Milchmenge berechnet kg | + oder − kg | Trockensubstanz gefunden kg | Trockensubstanz berechnet kg | + oder − kg | Fett gefunden kg | Fett berechnet kg | + oder − kg | Mittleres Körpergewicht kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Periode I . . | 4,56 | 4,37 | 52,5 | 52,5 | | 6,27 | 6,27 | | 1,73 | 1,73 | | 38,6 |
| " II . . | 6,42 | 4,65 | 45,0 | 4,68 | —1,8 | 5,50 | 5,68 | —0,18 | 1,56 | 1,59 | —0,03 | 38,0 |
| " III . | 4,66 | 4,32 | 40,4 | 40,4 | | 5,12 | 5,12 | | 1,43 | 1,43 | | 38,9 |
| " IV . | 6,50<br>8,33 | zu Beginn 3,71<br>am Ende 4,61 | 34,5 | 37,5 | —3,0 | 4,45 | 4,81 | —0,36 | 1,27 | 1,46 | —0,19 | 38,4 |
| " VI . . | 4,77 | 4,37 | 37,7 | 37,7 | | 4,39 | 4,39 | | 1,42 | 1,42 | | 39,8 |
| " VI . . | 8,00 | 4,15 | 26,4 | 31,9 | —5,4 | 3,86 | 4,47 | —0,61 | 1,44 | 1,50 | —0,06 | 39,1 |
| " VII . | 4,34 | 4,16 | 31,1 | 31,1 | | 4,28 | 4,28 | | 1,50 | 1,50 | | 39,9 |

[1]) *Kellner*, Fühlings landw. Ztg. **56**, 589, 1907.

[2]) Amer. Journ. of Physiol. **19**, 285; **20**, 234, 1908.

[3]) a. a. O.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **127**, 233, 1923.

stoffen und deren Bausteinen zur Zuckerbildung vor. Nach Abderhaldens Lehrbuch der physiologischen Chemie (S. 231) vermögen die Aminosäuren — z. B. Glykokoll, Alanin, Asparaginsäure — im Organismus Traubenzucker zu liefern, so daß der Zuckerbedarf des Körpers durch diese Aminosäuren gedeckt werden kann. Es würden dann die beigefütterten Kohlehydrate für andere Synthesen, vor allem für die Fettbildung, nutzbar gemacht werden. Versuche mit Glykokoll an milchgebenden Wiederkäuern sind bisher noch nicht ausgeführt worden, dagegen liegen Ergebnisse mit einer Fütterung mit Leim vor, der nach *Voit*[1]) bekanntlich eiweißsparend wirkt. *Morgen*[2]) erzielte mit einer Leimfütterung bei Schafen und Ziegen einen geringeren Ertrag an Milch, dafür aber war die Milch gehalt- insbesondere fettreicher. Auch *Gerlach*[3]) sowie *Hansen*[4]) berichteten über günstige Erfolge mit Leim. Leim liefert bekanntlich bei der Hydrolyse mit verdünnten Säuren reichlich Glykokoll. Die günstige Wirkung des Leims auf das Milchfett könnte also wohl auf das Glykokoll zurückgeführt werden.

## Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlußbetrachtung.

### a) *Wirkung auf den Stoffwechsel.*

Das eiweißreiche Grundfutter erzeugte stets stark positive Stickstoffbilanzen, verbunden mit einer Körpergewichtszunahme bei beachtenswerter Höhe der Milchleistung. Ein Fleisch- oder Fettansatz hat demnach stattgefunden. Harnstoff und Glykokoll als Ersatz von Eiweiß sind zwar imstande, das Stickstoffgleichgewicht zu bewahren, führen aber keinen Ansatz herbei. Im Vergleich zum Eiweißfutter veranlassen sie sogar eine Ausschwemmung stickstoffhaltiger Stoffe durch den Harn. Das beruht darauf, daß die nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen trotz Gegenwart leicht löslicher Mengen Kohlenhydrate vom Organismus nicht vollständig verwertet werden. Die Ausnutzung ist bei einer kleinen Gabe von Harnstoff am größten. Bei einer Verwendung von 16 g Harnstoff gleich 7,4 g Stickstoff betrug die Ausnutzung 77 Proz., bei 25 g = 11,35 g N 63 Proz. Glykokoll wurde zu 68 Proz. verwertet bei einer Menge von 70 g = 13,04 g Stickstoff. Der übrige Teil der Ersatzstoffe erscheint im Harn und vermehrt dessen Stickstoffgehalt. Mit der Ausschwemmung von Stickstoffverbindungen ist gleichzeitig eine Körpergewichtsabnahme zu beobachten. Diese Abnahme könnte auf einer Absetzung trockeneren Kotes, mithin auf einer verstärkten Abgabe von Wasser auf dem Wege durch die Nieren beruhen. Berechnet man aber den aus der geringer werdenden Milcherzeugung infolge fortschreitender Lactation sich ergebenden Überschuß an Kalorien aus den nicht korrigierten Zahlen, so müßte, falls eine volle Verwertung der Amide an Stelle des Eiweißes

---

[1]) a. a. O.
[2]) L. V. St. **94**, 219, 1919.
[3]) D. landw. Presse **43**, 229, 1916.
[4]) Mitteilung der D. L. G. **33**, 99, 1918.

stattgefunden hätte, dieser Überschuß sich in einem Stoffansatz äußern und das Körpergewicht zunehmen.

Periode II gegen I.

| | Fett g | Rohprotein g | Milchzucker g |
|---|---|---|---|
| Ziege 1 | — 14,47 | — 11,82 | — 27,02 |
| „ 2 | — 7,80 | — 2,43 | — 15,01 |
| „ 3 | — 4,69 | — 14,19 | — 10,95 |
| „ 4 | — 0,82 | — 3,93 | — 8,73 |
| „ 5 | — 4,85 | — 6,06 | — 13,54 |
| „ 6 | — 2,44 | — 4,37 | + 0,60 |
| | 35,07 | 32,80 | 74,65 |

Fett . . . . . . . . . . . 35,07 . 9,2 = 322,7 Kalorien
Rohprotein . . . . . . . 32,80 . 5,7 = 187,0 „
Milchzucker . . . . . . . 74,65 . 3,9 = 291,1 „
800,8 Kalorien

Überschuß je Ziege . . . . . . . . . 133,4 Kalorien

Periode IV gegen III.

| | Fett g | Rohprotein g | Milchzucker g |
|---|---|---|---|
| Ziege 1 | — 7,83 | — 13,88 | — 13,05 |
| „ 2 | — 7,72 | — 15,50 | — 3,40 |
| „ 3 | — 0,78 | — 1,88 | — 10,26 |
| „ 4 | — 4,98 | — 9,00 | — 3,41 |
| „ 5 | — 0,94 | — 7,31 | — 13,15 |
| „ 6 | — 10,00 | — 9,18 | — 7,87 |
| | 41,25 | 56,75 | 51,14 |

Fett . . . . . . . . . . . 41,25 . 9,2 = 379,5 Kalorien
Rohprotein . . . . . . . 56,75 . 5,7 = 323,5 „
Milchzucker . . . . . . . 51,14 . 3,9 = 499,5 „
901,5 Kalorien

Überschuß je Ziege . . . . . . . . . . 150,2 Kalorien

Periode VI gegen V.

| | Fett g | Rohprotein g | Milchzucker g |
|---|---|---|---|
| Ziege 1 | + 10,42 | + 1,00 | + 13,59 |
| „ 2 | — 6,77 | — 4,43 | — 12,62 |
| „ 3 | — 0,58 | — 18,93 | — 12,71 |
| „ 4 | — 2,51 | — 6,43 | + 4,35 |
| „ 5 | — 1,36 | — 1,69 | + 1,81 |
| „ 6 | — 4,33 | — 6,56 | — 3,68 |
| | — 5,33 | — 37,04 | — 10,26 |

Fett . . . . . . . . . . . 5,33 . 9,2 = 49,0 Kalorien
Rohprotein . . . . . . . 37,04 . 5,7 = 211,1 „
Milchzucker . . . . . . . 10,26 . 3,9 = 40,0 „
300,1 Kalorien

Überschuß je Ziege . . . . . . . . . . 50,0 Kalorien

Nach *Kellner*, Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere, 8. Aufl., S. 160, Fußnote, liefert 1 g Fleischtrockensubstanz 5,68 Cal. Der Ansatz in den Ersatzperioden hätte demnach betragen müssen, auf Fleisch bezogen, in der

| | | |
|---|---|---|
| Periode II . . . . | 23,4 g | Fleischtrockensubstanz je Tag |
| „ IV . . . . | 26,4 g | „ „ „ |
| „ VI . . . . | 8,8 g | „ „ „ |

Da die Tiere aber im Gewicht eingebüßt haben, so folgert hieraus, daß die Amide nicht imstande sind, das Futtereiweiß zu vertreten. Die unbestreitbare Tatsache, daß die Amidsubstanzen durch die Tätigkeit der Pansenbakterien mit Hilfe von Kohlehydraten in Bakterieneiweiß umgewandelt werden und in Rationen mit weitem Nährstoffverhältnis das Futtereiweiß in gewissem Maße zu sparen vermögen, bleibt hiervon unberührt.

*b) Wirkung auf die Milch.*

Der Ersatz des Futtereiweiß durch Harnstoff hatte einen Rückgang in der Milchmenge und in der Milchtrockensubstanz zur Folge. Dieser Rückgang war stärker bei einem größeren Ersatz (34 Proz. des Reineiweiß). Die Qualität der Milch (der prozentige Fettgehalt der Milchtrockensubstanz) wurde in geringem Maße verbessert. Glykokoll trug besonders stark zur Erzeugung einer fettreicheren Milch bei, im übrigen erlitten Milchmenge und Trockensubstanz auch hiermit eine starke Abnahme. An der Bildung von Milcheiweiß sind die Ersatzfutterstoffe sicherlich beteiligt, wie dies von Ammonverbindungen schon lange feststeht.

*Harnstoff und Glykokoll sind demnach nicht fähig, das Futtereiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit in bezug auf die Milchbildung zu ersetzen und können nicht als eigentliche Nährstoffe angesprochen werden.*

Nach Fertigstellung vorliegender Arbeit sind zwei Versuche[1]) veröffentlicht worden, welche sich gleichfalls mit der Frage der Wirkung des Harnstoffs als Ersatz für Produktionseiweiß befassen. In dem ersteren handelt es sich um die Beobachtung des Einflusses eines Eiweißersatzes durch Harnstoff auf die Milcherzeugung bei Kühen, während in dem zweiten Mästungsversuche mit Hammellämmern angestellt wurden. Beide Arbeiten, welche auch den Stickstoffumsatz berücksichtigen, bestätigen im wesentlichen die oben erhaltenen Befunde. In der dritten Versuchsreihe vergleicht *Honcamp* die Wirkung des Harnstoffs mit Trockenhefe bei unverändertem Gesamtstickstoff und Stärkewert. Das Körpergewicht der Kühe sinkt in der Harnstoffperiode und steigt in der anschließenden Trockenhefeperiode wieder an. In gleicher Weise äußert sich die Wirkung auf die Milchmenge. Mit dem Einsetzen der Harnstoffütterung tritt sofort eine vermehrte Stickstoffausscheidung durch die Nieren ein, die z. B. bei Kuh A im Vergleich

---

[1]) *Honcamp* und Mitarbeiter, diese Zeitschr. **148**, 111, 1923; *Völtz* und Mitarbeiter, Landw. Jahrb. **69**, 321, 1924.

zu den Mittelwerten der beiden die Harnstoffperiode einschließenden Trockenhefeperioden 16,9 g Stickstoff mehr beträgt, obwohl der Gesamtstickstoffgehalt der Rationen in den drei Perioden der gleiche geblieben ist. Der Harnstoff führte demnach zu einer Ausschwemmung stickstoffhaltiger Stoffe durch die Nieren. Die Tatsache, daß das Tier in der Harnstoffperiode bei sinkendem Körpergewicht noch 17 g Stickstoff täglich angesetzt hat, ist schwer zu erklären. In dem Mästungsversuch vergleicht *Völtz* in den Gruppen II und III Harnstoff mit Erdnußkuchen. Die Rationen enthielten in den beiden Gruppen die gleichen Mengen an resorbierbarem Stickstoff. Die Körpergewichtszunahme betrug am Ende des 174tägigen Versuchs 12,10 kg, in der Erdnußkuchengruppe dagegen 16,05 kg. Die ungünstigere Wirkung des Harnstoffs erklärt *Völtz* mit einem stärkeren Energieverbrauch infolge der durch den appetitanregenden Einfluß des Harnstoffs bedingten größeren Muskelarbeit des Kauens. Der Nährstoffverbrauch je Kilogramm Gewichtsabnahme betrug in der Harnstoffgruppe 0,94 kg verdauliches Rohprotein + 4,72 kg Stärkewert, in der Erdnußkuchengruppe 0,81 kg + 4,25 kg Stärkewert. Die Stoffwechselversuche ermöglichen keinen Vergleich, da sie an verschiedenen Tieren ausgeführt wurden.





# Eine jodometrische Bestimmung des Natriums.

Von

**Hans Müller.**

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

*(Eingegangen am 22. März 1924.)*

Im Oktober vorigen Jahres habe ich eine titrimetrische Mikromethode zur Bestimmung des Natriums in den Helv. Chim. Act. **6**, 1152 veröffentlicht, die im wesentlichen darauf beruht, das bewährte Verfahren von *Kramer* und *Tisdall*[1]), statt in der bisher üblichen gravimetrischen Form, durch Bestimmung des im Niederschlag enthaltenen Antimons durch Mikrotitration jodometrisch auszuführen. Das Verfahren wurde in Lösungen von bekanntem Gehalt und bei Gegenwart der in Betracht kommenden anderen Ionen geprüft und gab Werte, die maximal zwischen 98,65 bis 101,9 Proz. schwankten. Die Fehlergrenze liegt ungefähr bei höchstens 3 bis 4 Mikrogramm. Ein, soweit es die gegenwärtige Raumbeschränkung der wissenschaftlichen Zeitschriften zuläßt, reichliches Belegmaterial zeigte die Brauchbarkeit der Methode, die freilich wie alle Mikroverfahren an die Geschicklichkeit des Ausführenden größere Anforderungen stellt als die Makroanalyse, die aber, wie das bei uns in unserem Institut die Regel ist, erst zur Publikation gelangte, als sich gezeigt hatte, daß sie auch in der Hand jüngerer, etwas eingearbeiteter Studierender zu exakten Werten führt.

*M. Bálint* und *H. Petow*[2]) haben, wie sie soeben mitteilen, unabhängig von mir das gleiche Verfahren ausgearbeitet, haben aber von ihrer Publikation wegen zwei Arten von Fehlern abgesehen „erstens war die Streuung zu groß, d. h. die Einzelwerte der Parallelbestimmungen lagen zu weit auseinander (bis zu 3 Proz.), und zweitens war auch der Mittelwert hin und wieder unerklärlicherweise zu hoch oder zu niedrig (bis ± 5 bis 6 Proz.) geraten“. Sie geben drei Fehlerquellen an: 1. die Glassorte, 2. das Waschwasser, 3. das Reagens. Alle drei haben mit der von mir vorgeschlagenen Anwendung der Jodometrie nichts zu tun.

---

[1]) Journ. of biol. Chem. **46**, 467, 1921.

[2]) Diese Zeitschr. **145**, 242, 1924.

Da es mir, weil zurzeit im Militärdienst, unmöglich ist, zu diesen Bemerkungen experimentell Stellung zu nehmen, bzw. mein in Betracht kommendes noch nicht ausführlich publiziertes Analysenmaterial zu veröffentlichen, so möchte ich mich begnügen, auf folgende Punkte hinzuweisen: Bezüglich der Fehlerquellen 2 und 3, des Waschwassers und des Reagens habe ich mich ganz nach den Angaben von *Kramer* und *Tisdall* gerichtet, deren Vorschriften ja in die Literatur, z. B. den Chemikerkalender, übergegangen sind. Die von *diesen Autoren*, nicht von mir, vorgeschlagene Konzentration des verdünnten Waschalkohols von 30 Proz. prüfte ich nach und fand sie in voller Übereinstimmung mit *Kramer* und *Tisdall* als geeignet, weil einerseits eine größere Verdünnung zu erheblichen Löslichkeitsfehlern in bezug auf das Natriumpyroantimoniat führt, andererseits das Kaliumpyroantimoniat in konzentrierterem Alkohol ebenfalls schwer löslich ist, so daß durch Ausfallen und Mitbestimmen des Kaliumsalzes große Fehler im entgegengesetzten Sinne entstehen. Versuche, als Waschflüssigkeit verdünnten Methylalkohol oder Aceton zu verwenden, zeigten bedeutend schlechtere Resultate als mit 30 proz. Äthylalkohol.

Bezüglich des Reagens geben ja auch *Bálint* und *Petow* selbst an, daß es „unter normalen Verhältnissen normale Werte gibt", mehr wird zwar gewöhnlich nicht verlangt, die von ihnen in Aussicht gestellte „Steigerung des Sicherheitsfaktors" ist aber jedenfalls sehr zu begrüßen.

Wichtiger ist die erste Fehlerquelle, die Glassorte. Daß man bei Alkalibestimmungen auf den Alkaligehalt des Glases Rücksicht zu nehmen hat, ist ja eine altbekannte Tatsache, es ist aber ein Verdienst von *Bálint* und *Petow*, auf diese Fehlerquelle hingewiesen zu haben. Ich habe sie vermieden, da wir in unserem Institut schon seit längerer Zeit dazu übergegangen sind, nur Zentrifugengläser zu verwenden, die wir uns selbst aus geeignetem Glas blasen. Das ermöglicht nicht nur die Wahl der jeweils besonders geeigneten Glassorten (in der Beurteilung der im Laboratorium allgemein üblichen Zentrifugengläser stimmen wir mit *Bálint* und *Petow* überein), sondern es gestattet auch eines der obersten Gesetze jedes analytischen Arbeitens zu erfüllen, die Größe des Gefäßes genau dem zu verarbeitenden Volumen anzupassen, speziell auch unnötigen Überschuß von Auswaschflüssigkeit zu vermeiden. Da zur Bereitung von Zentrifugengläsern aus geeigneten Glasröhren wirklich keine große Glasblasekunst gehört, möchte ich die Bemerkung von *Bálint* und *Petow* zum Anlaß nehmen, diese Maßnahme allgemein zu empfehlen.

# Über die Bedingungen für die Akkumulation indifferenter Narkotika. Theoretische Berechnungen.

Von

**E. Widmark und J. Tandberg.**

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut Lund.)

*(Eingegangen am 23. März 1924.)*

Mit 6 Abbildungen im Text.

Die meisten Stoffe, sowohl physiologisch vorkommende als experimentell eingeführte, verteilen sich im Organismus auf eine solche Weise, daß die Konzentrationsschwankungen derselben im Blute von deren Umsetzung, Ausscheidung oder Neubildung in quantitativer Hinsicht kein getreues Bild geben. Dies beruht darauf, daß die Stoffe von gewissen Organen aufgenommen, in den Geweben gebunden werden, neue Verbindungen eingehen, die später wieder rückgebildet oder durch die Nieren in wechselnden Konzentrationen ausgeschieden werden.

Die Verhältnisse bei sogenannten indifferenten Narkotika sind dagegen von viel regelmäßigerer Art. Auf Grund des Vermögens dieser Stoffe, Zellen und Gewebe leicht zu durchdringen, werden sie im Organismus auf eine Weise verteilt, die vor allem durch die Löslichkeit des Stoffes in den verschiedenen Gewebeelementen bestimmt wird. Nach erreichtem Diffusionsgleichgewicht ist deshalb die Konzentration im Blut der im Organismus vorhandenen absoluten Menge des Stoffes direkt proportional. Hier spiegeln also die Veränderungen der Konzentration im Blut die Umsetzung im Körper in ihrer Gänze getreu wieder. Diese Stoffe können daher als in einem zum Körpergewicht in bestimmter Beziehung stehenden Volumen gelöst betrachtet werden. Dieses Volumen kann für jedes Individuum als konstant angesehen werden. Da hierzu kommt, daß die Reaktionen im warmblütigen Tierorganismus bei sehr konstanter Temperatur verlaufen, besteht also die Möglichkeit, dem Studium der quantitativen Schwankungen dieser Stoffe eine rein kinetische Betrachtungsweise zugrunde zu legen.

Mit dieser Problemstellung hat der eine von uns [*Widmark* (1)] früher den Konzentrationsfall des Acetons im Blut eingehend studiert. Hierbei konnte festgestellt werden, daß die Geschwindigkeit, mit der das Aceton aus dem Organismus verschwindet, sehr genau einer Reaktion erster Ordnung folgt, so daß

$$C_t = C_0 \cdot e^{-\alpha t} \quad \text{oder:} \quad \ln C_t = \ln C_0 - \alpha t, \qquad (1)$$

worin $C_0$ die in einem gewissen Augenblick vorhandene Konzentration, $C_t$ die Konzentration $t$ Zeiteinheiten später, sowie $\alpha$ eine Konstante (Eliminationskonstante) bedeutet.

Die Bestimmung der Konstanten ermöglichte eine Reihe exakter Berechnungen hinsichtlich des Verhaltens des Acetons innerhalb des Organismus. Betreffs dieser sei auf die zitierte Arbeit verwiesen.

In vorliegender Arbeit werden einige rein *theoretische Berechnungen des Verlaufes der Akkumulation gewisser indifferenter Narkotika, teils bei kontinuierlicher, teils bei intermittierender Zufuhr* mitgeteilt. Die Abhandlung besteht teils in einer Anwendung gewisser, in oben erwähnter Arbeit hinsichtlich des Acetons gewonnener Resultate, teils beabsichtigt sie, die Resultate theoretisch klarzulegen, welche die Verfasser und Mitarbeiter im hiesigen Institut bei Bestimmungen der Äthyl- und Methylalkoholkonzentrationen im Blute unter verschiedenen Verhältnissen erhalten haben. Diese Resultate sollen in dieser Zeitschrift in kurzem veröffentlicht werden.

Der in vorigem relatierte Ausscheidungsverlauf muß bei allen flüchtigen Narkotika stattfinden, da bei diesen die Elimination durch die Lungen den Hauptweg darstellt, auf dem die Substanz den Organismus verläßt. Dies deshalb, da diese Elimination einen reinen Diffusionsvorgang darstellt, dessen Geschwindigkeit von der Tension auf beiden Seiten der Alveolwände sowie von der alveolaren Ventilation abhängig ist. Letztere kann bei einem ruhenden Tier und bei langer Versuchszeit als konstant betrachtet werden [siehe *Widmark* (1) und (2)].

Das Aceton kann als ein Repräsentant dieser Klasse von Substanzen betrachtet werden. Im folgenden werden die Bedingungen für die Akkumulation dieser Stoffe unter der Abteilung „Fall I" besprochen.

Wird die Substanz im Organismus dagegen chemisch verändert, z. B. oxydiert, so kann die Geschwindigkeit, mit der die Substanz eliminiert wird (der Kürze halber verwenden wir den Ausdruck „eliminieren", jedes Verschwinden von Substanz aus dem Organismus bezeichnend, ob dies nun auf physikalischem oder chemischem Wege stattfindet), offenbar durch mehrere verschiedene Kurven dargestellt werden. Hier haben wir nur Anlaß, über die wahrscheinliche Art der Elimination von Methyl- und Äthylalkohol zu berichten. Diese erfolgt nämlich mit einer für das Individuum konstanten Menge per Zeiteinheit, unabhängig von der im Organismus vorhandenen Konzentration. Dieses Gesetz, im folgenden „Fall II", kann ausgedrückt werden durch:

$$C_t = C_0 - \beta t. \tag{2}$$

Gleiche Bezeichnungen wie in Gleichung (1).

Es soll schon hier hervorgehoben werden, daß diese Art der Betrachtung nur innerhalb eines gewissen Konzentrationsgebietes Gültig-



keit besitzt, nämlich unterhalb jener Konzentration, wo die eingetretene Narkose auf die chemischen und physikalischen Funktionen des Organismus störend einzuwirken beginnt, sowie oberhalb eines gewissen Minimumwertes. Unsere Beobachtungen hinsichtlich der drei erwähnten Stoffe erstrecken sich nur über eine Konzentration von wenigen Promille.

Wie sich aus (2) ergibt, ist hier der Konzentrationsfall ein geradliniger. Ein solcher Fall tritt ein, wenn das Vermögen des Organismus, die Substanz umzusetzen, eine gewisse Menge ($\beta$) per Zeiteinheit nicht übersteigen kann. Diese Begrenzung kann man sich durch die Art der Tätigkeit der bei der Verbrennung wirksamen Enzyme entstanden denken. Darauf soll in einer späteren Arbeit zurückgekommen werden.

Nach (2) scheint der Konzentrationsfall geradlinig zu erfolgen. Man kann sich indessen vorstellen, daß dies nicht länger als bis zu dem Zeitpunkt der Fall sein kann, wo der verbleibende Alkohol im Verhältnis zu den übrigen an der Reaktion beteiligten Substanzen noch im Überschuß vorhanden ist. Nach diesem Zeitpunkt muß der Konzentrationsfall auf eine andere Weise erfolgen, vielleicht nach der Reaktion erster Ordnung. Es ist wahrscheinlich, daß dieser Punkt, was die Alkohole betrifft, so niedrig liegt, daß er mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht ermittelt werden kann. Im folgenden führen wir eine Berechnung dieses Zeitpunktes sowie die Lage desselben auf der $y$-Achse durch.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen gehen wir zum Bericht über die Akkumulationskurven, die sich für die beiden erwähnten Fälle ergeben, über. Bei der Deduktion der Formeln haben wir mit absoluten Mengen gerechnet, weil das Volumen des Organismus während der Akkumulationszeit, wenn nicht abnorm große Flüssigkeitsmengen zugeführt werden, praktisch genommen als konstant angesehen werden kann. Hinsichtlich der Beziehung zwischen der im Körper vorhandenen absoluten Menge des Stoffes und der Konzentration im Blut sei auf die Auseinandersetzung in (1), S. 111 hingewiesen.

## Fall I.

Der in den Organismus eingeführte Stoff wird proportional der vorhandenen Menge nach (1) eliminiert.

### *A. Die Akkumulationskurve bei kontinuierlicher Zufuhr.*

Bei kontinuierlicher Zufuhr kann die Akkumulationskurve auf folgende Weise berechnet werden:

$b$ = die in der Zeiteinheit zugeführte Menge,

$y$ = die im Organismus zur Zeit $t$ vorhandene Menge,

$\alpha$ = der Eliminationskoeffizient.

Die Akkumulation während der Zeit $dt$ beträgt:

$$dy = b\,dt - \alpha\,y\,dt$$

und nach Integration:

$$y = \frac{b}{\alpha}(1 - e^{-\alpha t}). \qquad (3)$$

Die Gestalt der Kurve ergibt sich aus Abb. 1.

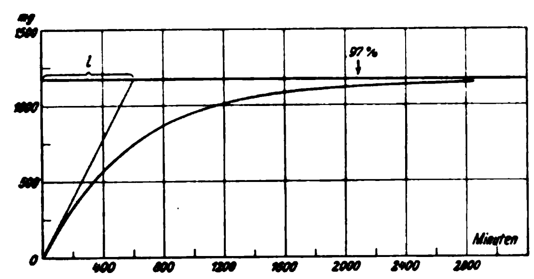



Abb. 1. Akkumulation bei kontinuierlicher Zufuhr nach Fall I. $\alpha = 0{,}0017$, $b = 2$ mg pro Minute.

Wie sich aus (3) ergibt, wächst $y$ zu Beginn rasch, um sich einem asymptotischen Wert für große Werte von $t$ zu nähern, d. h. wenn $e^{-\alpha t}$ sich Null nähert. Der Grenzwert der Akkumulation wird durch den Quotienten:

$$y_{\infty} = \frac{b}{\alpha} \qquad (4)$$

bestimmt.

Dies bedeutet also, daß *jede kontinuierliche Zufuhr des Stoffes in einer konstanten Menge im Organismus resultiert, die der per Zeiteinheit zugeführten Menge direkt proportional und dem Eliminationskoeffizienten umgekehrt proportional ist.*

Über die Bedeutung dieses Satzes für die Acetonbildung innerhalb des diabetischen Organismus siehe *Widmark* (1).

**Berechnung der Konstanten $\alpha$ aus der Akkumulationskurve.**

Aus der Akkumulationskurve kann $\alpha$ durch graphische Konstruktion ermittelt werden. Läßt man die durch den Ursprung gehende Tangente die Asymptote treffen, so schneidet sie auf letzterer die Strecke $l$ ab (Abb. 1).

Aus Gleichung (3) erhält man:

$$\frac{dy}{dt} = b \cdot e^{-\alpha t}.$$

Für $t = 0$ wird

$$\left(\frac{dy}{dt}\right)_0 = b.$$

aus Abb. 1 ergibt sich aber, daß

$$\left(\frac{dy}{dt}\right)_0 = \frac{y_{\infty}}{l}.$$

Durch Zuhilfenahme von Gleichung (4) erhält man also

$$b = \frac{b}{\alpha l} \quad \text{oder} \quad \alpha = \frac{1}{l}. \tag{5}$$

Diese Art der Berechnung dürfte für $\alpha$ indessen nur einen ungefähren Wert ergeben, da es mit Schwierigkeiten verbunden ist, die experimentelle Kurve in der Nähe des Ursprungs genau aufzuzeichnen. Leichter berechnet sich $\alpha$ aus dem Asymptotenwert nach

$$y_\infty = \frac{b}{\alpha}.$$

Theoretisch wird dieser Wert indessen nie erreicht. Wird jedoch angenommen, daß eine konstante Menge erhalten wurde, wenn sie nur mit 3 Proz. von der asymptotischen abweicht, so trifft dies zu, wenn $e^{-\alpha t}$ den Wert von 0,03 angenommen hat. Hieraus ist

$$t = \frac{3{,}506}{\alpha}. \tag{6}$$

*Die für das Erreichen des praktischen Gleichgewichtes zwischen Zufuhr und Elimination erforderliche Zeit ist also von der zugeführten Menge unabhängig, aber verkehrt proportional dem Koeffizienten* $\alpha$.

*B. Die Akkumulationskurve bei intermittierender Zufuhr.*

Bei intermittierender Zufuhr wird angenommen, daß eine konstante Menge, $B$, mit gleichen Zeitzwischenräumen zugeführt wird. Die Zeit zwischen zwei aufeinander folgenden Dosen ist $\theta$. Die pro Zeiteinheit im Mittel zugeführte Menge ist also $B/\theta$. Die Stoffmenge zur Zeit $t$ ist $y$ und der Eliminationskoeffizient $\alpha$.

Die Substanzmenge wird durch eine zackige Kurve veranschaulicht (Abb. 2), die ideal, unmittelbar *nach* jeder neuerlichen Zufuhr ein

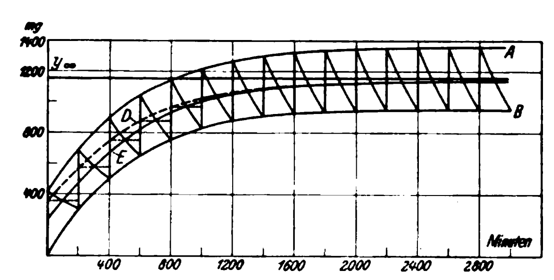



Abb. 2. Intermittente Zufuhr. Konstanten wie in Abb. 1. Verlauf der Kurven $A$, $B$, $D$ und $E$.

Maximum und unmittelbar *vor* jeder Zufuhr ein Minimum aufweist. Die Kurve, nach der die Akkumulation erfolgt, kann im Verhältnis zu den periodischen Fluktuationen auf verschiedene Weise eingezeichnet werden. Wir beschreiben hier:

a) Die Kurve durch die Maxima der Fluktuationen.

b) Die Kurve durch die Minima der Fluktuationen.

c) Die Kurve zwischen den Maxima und Minima.

a) Die Kurve durch die Maxima der Fluktuationen.
Die $A$-Kurve.

Die Stoffmenge nach der I. Dosis:

$$y = B, \qquad t = 0.$$

Die Stoffmenge nach der II. Dosis:

$$y = B . e^{-\alpha\theta} + B, \qquad t = \theta.$$

Die Stoffmenge nach der III. Dosis:

$$y = B . e^{-2\alpha\theta} + B . e^{-\alpha\theta} + B, \qquad t = 2\theta.$$

. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . .

Die Stoffmenge nach der $n$-ten Dosis:

$$y = B . e^{-(n-1)\alpha\theta} + B . e^{-(n-2)\alpha\theta} + \cdots + B . e^{-\alpha\theta} + B, \quad t = (n-1)\theta.$$

Der letzte Ausdruck kann umgeformt werden zu

$$y = \frac{B(1 - e^{-n\alpha\theta})}{1 - e^{-\alpha\theta}}. \tag{7}$$

Für alle Punkte, in denen $t$ ein Multipel von $\theta$ beträgt, gilt $t = (n-1)\theta$, woraus $n\theta = t + \theta$ und daher:

$$y = \frac{B(1 - e^{-\alpha(t+\theta)})}{1 - e^{-\alpha\theta}}. \tag{8}$$

Die Gleichung (7) ergibt den Wert für $y$ im Maximum der Fluktuation, also unmittelbar nach der $n$-ten Injektion, während die Gleichung (8) eine kontinuierliche Kurve darstellt, die durch alle von (7) bestimmten Punkte geht. Siehe Abb. 2, Kurve $A$.

b) Die Kurve durch die Minima der Fluktuationen.
Die $B$-Kurve.

Die kontinuierliche Kurve durch die Minima der Fluktuationen verläuft offenbar beinahe parallel mit der vorigen (Abb. 2, $B$). Die Ordinaten für diese Kurve sind um $B$-Einheiten kleiner als die für (8), d. h.:

$$y = \frac{B(1 - e^{-\alpha(t+\theta)})}{1 - e^{-\alpha\theta}} - B,$$

was umgeformt werden kann zu:

$$y = \frac{B(1 - e^{-\alpha t})}{e^{\alpha\theta} - 1}. \tag{9}$$

c) Die Kurve, um welche sich die Fluktuationen bewegen.
Die $C$-Kurve.

Die wirkliche Kurve, um welche sich die diskontinuierliche bewegt, wird von den beiden Kurven (8) und (9) eingeschlossen. Wenn die pro Zeiteinheit zugeführte Menge auf eine größere Anzahl von Dosen

mit kürzeren Intervallen verteilt wird, so nähern sich diese einander. Beim Grenzübergang $\theta = 0$ fallen sie in der Kurve: $y = \frac{b}{\alpha}(1 - e^{-\alpha t})$ (worin $b = \frac{B}{\theta}$ = die pro Zeiteinheit zugeführte Menge darstellt) zusammen, welche also mit der bei kontinuierlicher Zufuhr erhaltenen (vgl. Gleichung 3) identisch ist. Abb. 3, *C*.

Dieser Satz, daß die Akkumulation gleichen Mittelwerten folgt, um die gleiche Kurve fluktuiert, ob nun die Zufuhr eine kontinuierliche

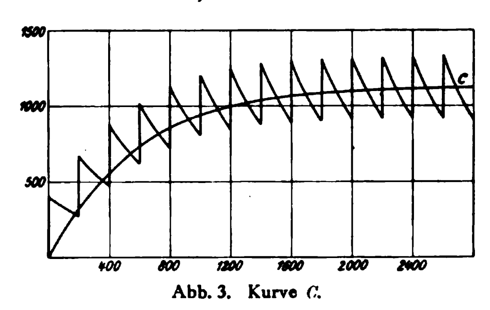



Abb. 3. Kurve *C*.

oder intermittierende ist, vorausgesetzt daß die pro Zeiteinheit zugeführte Menge die gleiche ist —, gilt im Gegensatz zu dem was hier vorausgesetzt wurde, offenbar auch dann, wenn die Zufuhr keine momentane ist. Wenn sich der Stoff auch, wie z. B. durch subkutane Injektion, relativ langsam im Blut und den Geweben verteilt, so wird doch dieser Kurve gefolgt; jedoch unter der Bedingung, daß die Resorption innerhalb der Zeit $\theta$ vollendet wird. Die Maxima und Minima schwanken dagegen in Abhängigkeit von der Resorptionsgeschwindigkeit.

Die Kurve, um die sich die diskontinuierliche bewegt, kann indessen verschieden gezogen werden. Es beruht dies auf der Art der Definition des Mengenmittelwertes innerhalb jeder Periode. Die Kurve *C*, die mit der bei kontinuierlicher Injektion erhaltenen identisch ist, beginnt im Ursprung. Da jedoch die erste Zufuhr bereits zur Zeit 0 erfolgt und weil der Versuch mit der Menge *B* anstatt mit der Menge 0 beginnt, werden die Abweichungen genannter Kurve hier groß. Wir wollen hier in Kürze einige andere Arten der Einlegung fraglicher Kurve beschreiben.

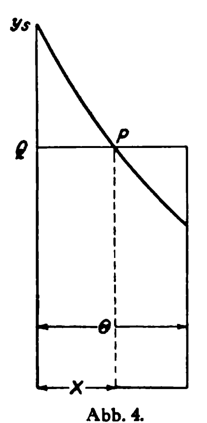



Abb. 4.

Die Kurven *D* und *E*.

Jedes Trapez der Kurve (Abb. 4) kann durch ein flächengleiches Rechteck ersetzt werden, dessen Höhe dann die Mittelmenge der Substanz während

der fraglichen Periode angibt. Ferner können wir uns die kontinuierliche Kurve durch die Punkte $Q$ und $P$ gezogen denken.

Die Höhe des Rechtecks und die Abszisse des Punktes $P$, $x$ können berechnet werden:

Wird die Höhe der Spitze $x = y_s$ angenommen, so gilt die Bedingung:

$$y_s \,.\, e^{-\alpha x} \,.\, \theta = \int_0^\theta y_s \,.\, e^{-\alpha t} \,.\, dt, \tag{10}$$

woraus:

$$e^{-\alpha x} = \frac{1 - e^{-\alpha \theta}}{\alpha \theta}. \tag{11}$$

Mehr brauchen wir über die Strecke $x$, die also von $t$ und $y$ unabhängig ist, nicht zu wissen.

Die Kurve durch $Q$ (die $D$-Kurve, Abb. 3) wird auf folgende Weise erhalten:

In jedem Trapez soll für den Punkt $Q$ gelten:

$$y = y_s \,.\, e^{-\alpha x}.$$

Werden die Werte für $e^{-\alpha x}$ nach (11) und für $y_s$ nach (8) eingesetzt, so erhält man

$$y = \frac{B}{\alpha \theta} (1 - e^{-\alpha (t + \theta)}). \tag{12}$$

Legen wir die kontinuierliche Kurve anstatt dessen durch den Punkt $P$ (die $E$-Kurve, Abb. 2), so erhalten wir die folgende Gleichung:

Entspricht ein Punkt $P$ der Zeit $t$, so liegt die unmittelbar vorhergehende Kurvenspitze bei der Zeit $t - x$, wobei $x$ nach der Gleichung (11) bestimmt wird. Die Ordinate für die Spitze wird aus der Gleichung (8) durch Einsetzen des Wertes $t - x$ für die Zeit erhalten. Der Punkt $P$ hat also die Ordinate:

$$y = \frac{B\,(1 - e^{-\alpha (t - x + \theta)}) \,.\, e^{-\alpha x}}{1 - e^{-\alpha \theta}}.$$

Dieser Ausdruck wird folgendermaßen umgeformt:

$$y = \frac{B\,(e^{-\alpha x} - e^{-\alpha (t + \theta)})}{1 - e^{-\alpha \theta}}.$$

Mit Gleichung (11) erhält man ferner

$$y = \frac{B}{\alpha \theta} - \frac{B\, e^{-\alpha t} \,.\, e^{-\alpha \theta}}{1 - e^{-\alpha \theta}},$$



oder:

$$y = \frac{B}{\alpha\theta} - \frac{B \cdot e^{-\alpha t}}{e^{\alpha\theta} - 1}. \tag{13}$$

Diese letzte Kurve ist leicht zu berechnen, da $\frac{B}{\alpha\theta}$ und ebenso $\frac{B}{e^{-\alpha\theta} - 1}$ konstant ist. Nur die Werte für $e^{-\alpha t}$ müssen für jeden Fall berechnet und dann mit der Konstanten multipliziert werden.

Der Verlauf dieser verschiedenen Kurven unterscheidet sich nur im Beginn. Sie streben alle dem gleichen Asymptotenwert $y_\infty = \frac{B}{\alpha\theta}$ zu, was ohne Schwierigkeit einzusehen ist.

**Fall II.**

Der in den Organismus eingeführte Stoff wird mit einer konstanten Menge pro Zeiteinheit, unabhängig von der vorhandenen Menge nach (2) eliminiert.

*A. Die Akkumulationskurve bei kontinuierlicher Zufuhr.*

Wenn $b$ die in der Zeiteinheit kontinuierlich zugeführte Menge, $\beta$ die in der Zeiteinheit eliminierte Menge und $y$ die Substanzmenge zur Zeit $t$ ist, so erhält man

$$y = (b - \beta)t. \tag{14}$$

Geht man von einer gewissen Anfangsmenge aus, so wird diese linear erhöht, wenn $b > \beta$, einen konstanten Wert beibehalten, wenn $b = \beta$, vermindert werden, wenn $b < \beta$; und dies nach der Gleichung:

$$y = y_0 + (b - \beta)t. \tag{15}$$

Die Verminderung nach obenstehender Gleichung findet indessen nur bis zu einem bestimmten Wert von $y$ statt, nämlich solange die Substanz

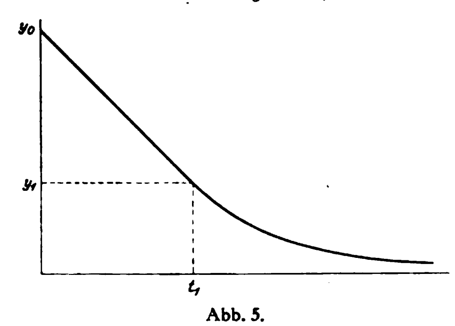


Abb. 5.

in einem gewissen Überschuß im Verhältnis zu dem an der Reaktion beteiligten Stoffe vorhanden ist. Unterhalb dieses Wertes (wir nennen ihn $y_1$) verläuft der Fall nicht mehr linear. Die Lage dieses Punktes kann nur

unter gewissen Voraussetzungen berechnet werden. Wir nehmen hier zuerst den einfachsten Fall an, nämlich, daß keine weitere Stoffzufuhr stattfindet, daß die Reaktion in eine solche erster Ordnung übergeht, sowie daß dieser Übergang kontinuierlich und nicht sprungweise geschieht. Diese letzte Bedingung denken wir uns dadurch verwirklicht, daß die Tangente der Exponentialkurve im Übergangspunkt mit der geraden Linie identisch ist (Abb. 5).

Es wird angenommen, daß für die erwähnte Reaktion der ersten Ordnung der Eliminationskoeffizient $\alpha$ gilt und daß dem Punkt $y_1$ die Zeit $t_1$ entspricht. Findet keine Zufuhr statt ($b = 0$), so lautet die Gleichung für $y$:

$$(t > t_1) \quad y = \frac{\beta}{\alpha} e^{-\alpha(t-t')}, \tag{16}$$

worin $t_1$ durch die Relation:

$$t_1 = \frac{y_0 - y_1}{\beta} \tag{17}$$

bestimmt wird.

Wenn dagegen fortwährend eine gewisse Zufuhr $b$ stattfindet, so gilt die Gleichung:

$$(t > t_1) \quad y_1 = \frac{b}{\alpha} + \frac{\beta - b}{\alpha} e^{-\alpha(t-t')}, \tag{18}$$

worin $t_1$ durch die Relation:

$$t_1 = \frac{y_0 - y_1}{\beta - b} \tag{19}$$

bestimmt wird.

Aus beiden (16) und (18) wird also der Endpunkt des linearen Falles, $y_1$, bestimmt durch:

$$y_1 = \frac{\beta}{\alpha}, \tag{20}$$

der exponentielle Zusammenhang dagegen durch den Asymptotenwert:

$$y_\infty = \frac{b}{\alpha}, \tag{21}$$

der für $b = 0$ wird, d. h. wenn keine Zufuhr mehr stattfindet.

*B. Intermittierende Zufuhr.*

Wie früher sei angenommen, daß die Zeit zwischen jeder Dosis $\theta$ und die jedesmal zugeführte Menge $B$ sei. Die pro Zeiteinheit elimi-

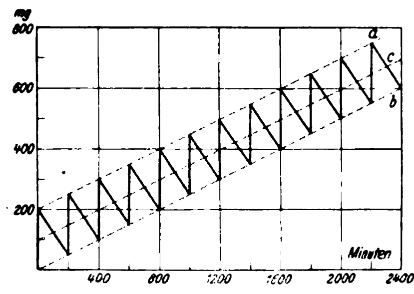



Abb. 6. Akkumulationskurve nach Fall II bei intermittenter Zuführung. $\alpha = 0{,}0017$, $\beta = 200$ mg, $\theta = 200$ Minuten.

nierte Menge $\beta$ ist von der Totalmenge $y$ unabhängig, solange $y$ größer als ein gewisser konstanter Wert $y_1$ ist (Abb. 6).

Eine Akkumulation findet allerdings nur statt, wenn $\frac{B}{\theta} > \beta$, von dem wir annehmen, daß es hier der Fall sei.

Die Menge *vor* der $n$-ten Injektion ist

$$y = (n-1)(B-\beta\theta)$$

und unmittelbar *nach* derselben

$$y = (n-1)(B-\beta\theta) + B.$$

Die Kurve durch die Maxima der Fluktuationen, die Kurve $a$.

$$y = B + \left(\frac{B}{\theta} - \beta\right)t. \tag{22}$$

Die Kurve durch die Minima der Fluktuationen, die Kurve $b$.

$$y = \left(\frac{B}{\theta} - \beta\right)t. \tag{23}$$

Diese Linie ist mit der für die kontinuierliche Dosierung (14) identisch, denn $\frac{B}{\theta} = b$.

Die Kurve durch die Mittelpunkte zwischen den Maxima und Minima der Fluktuationen, die Kurve $c$.

Die beiden vorhergehenden geraden Linien begrenzen die Kurve, um welche die Menge fluktuiert, und wie in Fall I nähert sich Linie $a$ der Linie $b$, je mehr $\theta$ vermindert, also die Anzahl der Dosen bei pro Zeiteinheit gleich großer Zufuhr erhöht wird. Wenn $\theta = 0$ ist, fallen die beiden Linien mit der Kurve für die kontinuierliche Zufuhr zusammen (15). Bei intermittierender Zufuhr wird die Linie, um welche die Menge fluktuiert ($C$, Abb. 6):

$$y = \frac{1}{2}B + \left(\frac{B}{\theta} - \beta\right)t. \tag{24}$$

Diese Linie steigt unbegrenzt, wenn

$$\frac{B}{\theta} - \beta > 0.$$

verläuft horizontal für

$$\frac{B}{\theta} - \beta = 0$$

und fällt wenn

$$\frac{B}{\theta} - \beta < 0.$$

*Dies entspricht einer unbegrenzten Akkumulation, Konstanz oder Verminderung des Stoffes innerhalb des Organismus, je nachdem die Zufuhr B dividiert durch die Zeitperiode θ größer, gleich oder kleiner als β ist.*

## Literatur.

1) *Widmark,* Acta med. scand. 52, 87—164, 1919. — 2) *Derselbe,* Biochem. Journ. 14, 379—394, 1920.

# Über die enzymatische Spaltung der Phenacetursäure.

Von

C. Neuberg und J. Noguchi.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Die Phenacetursäure, deren Vorkommen im normalen Pferdeharn im Jahre 1879 *E. Salkowski*[1]) entdeckt hat, stellt eine Verbindung der Phenylessigsäure mit Glykokoll dar, ist also gewissermaßen ein Homologes der Hippursäure. Sie hat außer durch ihre allgemeine Verbreitung im Harn der Pflanzenfresser und ihr gelegentliches Vorkommen im Menschenharn noch dadurch Interesse erlangt, daß sie nach Verfütterung einer Reihe fett-aromatischer Verbindungen im Urin auftritt, sofern die verabfolgten Substanzen zu Phenylessigsäure oxydiert werden, die sich dann mit Glykokoll paart (*F. Knoop*, *H. D. Dakin*).

Soweit wir sehen, ist über die enzymatische Zerlegbarkeit dieses Harnbestandteils bisher nichts bekannt geworden; und doch wird diese Verbindung in der Natur zerfallen, da sie als eine häufige Komponente des Urins Bausteine enthält, die in den Kreislauf zurückkehren müssen. Daher haben wir geprüft, ob *ein Enzym vorhanden ist, welches die Hydrolyse der Phenacetursäure bewerkstelligt*, und haben gefunden, daß ähnlich wie für die Spaltung der Ätherschwefelsäuren[2]) und der Hippursäure[3]) die aus dem Pilze Aspergillus oryzae gewonnene Takadiastase ein derartiges Agens enthält.

Um ein einwandfreies Ausgangsmaterial zu besitzen, gingen wir von synthetischer Phenacetursäure aus, die nach den Angaben von *Hotter*[4]) aus dem Phenylessigsäurechlorid und Glykokoll bereitet worden war (F. 143°). Aus dem reinen Phenacetyl-glykokoll wurde das Natriumsalz dargestellt und dieses in 1proz. Lösung zu den Spaltungsversuchen benutzt.

---

[1]) *E.* und *H. Salkowski*, Ber. **12**, 653, 1879; **17**, 3010, 1884; H. **9**, **229**, 1885.

[2]) *C. Neuberg* und *K. Kurono*, diese Zeitschr. **140**, 295, 1923.

[3]) Vgl. *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, ebendaselbst **145**, 186, 1924.

[4]) *E. Hotter*, Ber. **20**, 81, 1887; Journ. f. prakt. Chem. [2] **38**, 97, **1888**.

Dieselben wurden in der Weise ausgeführt, daß 1proz. wässerige Lösungen der Natriumverbindung mit wechselnden Mengen Ferment sowie 1 Vol.-Proz. Toluol versetzt und dann im Brutschrank bei 37⁰ digeriert wurden. Der Grad der Spaltung wurde dadurch gekennzeichnet, daß die frei gewordene Menge Phenylessigsäure mit Petroläther extrahiert und in reinem Zustande zur Wägung gebracht wurde. Zur Vornahme dieser Operation wurden aliquote Teile der Gemische klar filtriert, mit Schwefelsäure angesäuert und dann erschöpfend mit Ligroin ausgezogen.

Die dabei erhaltenen Resultate seien der Übersichtlichkeit wegen in der nachstehenden kleinen Tabelle angegeben. Zu dieser bemerken wir, daß stets eine 1proz. Lösung von phenacetursaurem Natrium verwendet und steigende Fermentquantitäten benutzt worden sind.

| Nach Tagen | Spaltung in Prozenten | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ferment | | | | | | |
| | 0,1 Proz. | 0,2 Proz. | 0,3 Proz. | 0,5 Proz. | 1,0 Proz. | 1,5 Proz. | 2,0 Proz. |
| 2 | 1,36 | 10,85 | 16,28 | 20,14 | 25,08 | 33,76 | 39,19 |
| 4 | 3,98 | 11,20 | 18,33 | 24,48 | 28,09 | 35,88 | 47,03 |
| 6 | 4,04 | 12,65 | 20,62 | 27,68 | 29,90 | 38,03 | 48,94 |
| 8 | 4,09 | 12,78 | 22,85 | 30,03 | 31,35 | 41,11 | 50,10 |

Gute Resultate haben wir nur mit frischem japanischen Ferment erzielt, während ein englisches Erzeugnis bloß ein schwaches Spaltungsvermögen aufwies.

# Die enzymatische Spaltung benzoylierter Aminosäuren und ihr asymmetrischer Verlauf.

Von

**C. Neuberg** und **K. Linhardt.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Im Jahre 1881 hat *Schmiedeberg* entdeckt, daß die Nierenzellen des Schweines ein Endoenzym enthalten, das imstande ist, das bekannte Stoffwechselprodukt[1]) Hippursäure (Benzoyl-glykokoll) in die Komponenten zu zerlegen. Das Histozym genannte Agens kommt nach Untersuchungen von *Minkowski*, *Jacoby* und *Nencki* sowohl in anderen Organen als bei verschiedenen Tieren vor; es findet sich nach *van Tighem*, *Shibata*, *Nikitinski*, *Seo*, *Dox*, *Neidig* und *Kossowicz* ebenfalls bei Kleinlebewesen, von denen mehrere zur Spaltung von Hippursäure befähigt sind. Ferner ist festgestellt worden[2]), daß Homologe der Hippursäure von tierischem Histozym angegriffen werden, und eine ausführliche Arbeit hierüber verdankt man *Smorodinzew*[3]). Dieser Forscher hat auch bereits beobachtet, daß die Benzoylverbindung der d, a-Benzoyl-n-amino-buttersäure bis zu 17 Proz. von dem Ferment der tierischen Zelle (Hundemuskulatur) zersetzt wurde, während es auf den l-Antipoden ohne Einfluß blieb.

Soweit wir sehen, hat noch kein Autor in Betracht gezogen, auf die Wirkung des Histozyms das *Prinzip zu einer neuen Zerlegung razemischer Aminosäuren* zu gründen.

Dies ist nun möglich, wie wir im folgenden kurz belegen werden. Das Vorgehen wird dadurch erleichtert, daß man statt unlöslicher und verhältnismäßig umständlich zu bereitender tierischer Trockenorgane ein Enzym anwendet, das käuflich ist.

Wie schon vor kurzem *Neuberg* und *Rosenthal*[4]) erwähnt haben, enthält die Takadiastase neben so vielen anderen Fermenten zugleich eine Amidase, die Hippursäure spaltet; dieses Enzym vermag nun auch die Homologen des Benzoyl-glykokolls anzugreifen, und zwar nach unseren Erfahrungen am d, l-Alanin im asymmetrischen Sinne.

---

[1]) Literatur siehe bei *J. Neuberg*, diese Zeitschr. **145**, **249**, **1924.**

[2]) *N. Mutch*, Chem. Centralbl. **1912**, II, 730.

[3]) *J. A. Smorodinzew*, H. **124**, 123, 1923.

[4]) *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, diese Zeitschr. **145**, **186**, **1923.**

Wenn diese Methode durchgebildet sein wird, dürfte sie *die biochemische Darstellung beider Antipoden ein und derselben Aminosäure* erlauben; denn beispielsweise wird das Benzoyl-d, l-alanin gespalten in freie Benzoesäure und d-Alanin, während Benzoyl-l-alanin unverändert bleibt, aber auf bekanntem Wege leicht zu den Komponenten hydrolysiert werden kann.

Zu diesen Versuchen diente japanische Takadiastase.

### A. Versuche mit Benzoyl-glykokoll.

1. 0,32 g hippursaures Natrium wurden in 25 ccm Wasser gelöst, mit 0,1 g Takadiastase versetzt sowie mit 0,5 ccm Toluol gut durchgeschüttelt. Nach 4 Tagen wurde die Lösung, die bei 37° aufbewahrt worden war, mit Schwefelsäure angesäuert und die auf enzymatischem Wege frei gewordene Benzoesäure mit Petroläther extrahiert. Die abgespaltene Menge belief sich auf 29 Proz. der Theorie.

2. Ansatz von 1,0 g hippursaurem Natrium in 100 ccm Wasser mit 0,5 g Ferment + 1 ccm Toluol. Temperatur 37°.

Es waren abgespalten:

| | | | |
|---|---|---|---|
| nach | 3 Tagen . . . . . | 50,2 Proz. | Benzoesäure, |
| „ | 6 „ . . . . . | 65,8 „ | „ |
| „ | 10 „ . . . . . | 71,2 „ | „ |
| „ | 14 „ . . . . . | 72,2 „ | „ |

3. 1 g hippursaures Natrium, 100 ccm Wasser, 1 g Ferment + 1 ccm Toluol. Die Spaltung betrug bei 37°:

| | | |
|---|---|---|
| nach | 3 Tagen . . . . . | 92,0 Proz., |
| „ | 6 „ . . . . . | 93,5 „ |

Die Spaltung durch Takadiastase kann also weiter getrieben werden als *Dox* und *Neidig*[1]) angegeben haben; diese Autoren haben nach 14tägiger Einwirkung eine Hydrolyse von 40 Proz. konstatiert.

Außer der Benzoesäure, die in Substanz gewogen wurde, haben wir auch das frei gewordene Glykokoll in üblicher Weise[2]) als Glykokollester-chlorhydrat nachgewiesen.

Unsere Takadiastase war in Wasser nicht ganz klar löslich, und so war an sich die Möglichkeit vorhanden, daß die enzymatische Spaltungskraft an den festen Bestandteilen des Ferments haftet, so wie es für das animalische Histozym festgestellt worden ist. Es zeigte sich jedoch, daß auch die klare wässerige Lösung eine Hydrolyse des hippursauren Salzes herbeiführte.

4. 1 g Ferment wurde in 80 ccm Wasser durch Schütteln fein verteilt. Die Mischung blieb 2 Stunden im Brutschranke bei 37° stehen und wurde dann klar filtriert. Zu der blanken Flüssigkeit, die auf

[1]) *A. W. Dox* und *R. E. Neidig*, H. 85, 70, 1913.
[2]) *E. Fischer* und *A. Skita*, H. 33, 183, 1901.

100 ccm aufgefüllt wurde, fügten wir 1 g festes Natriumhippurat nebst 1 ccm Toluol. Die Spaltung erfolgte im Thermostaten nach 3 Tagen zu 81,5 Proz. und nach 6 Tagen zu 83,1 Proz.

5. Für die präparative Handhabung wäre es bequem, statt des hippursauren Natriums die entsprechende Bariumverbindung zu benutzen. Die Möglichkeit scheint jedoch nicht ohne weiteres gegeben zu sein; denn die Spaltung des hippursauren Bariums blieb recht unvollständig. Es sei jedoch dahingestellt, ob eine mit dem Bariumsalz auftretende Flockung das Ferment mechanisch niedergerissen hat, oder ob eine spezifische Giftwirkung des Bariumions vorlag, oder die Reaktion des Milieus ungünstig bzw. das Ferment durch Lagerung (vgl. S. 375) geschädigt war.

22 g hippursaures Barium wurden in 1000 ccm Wasser gelöst und mit 2,5 g Ferment sowie 5 ccm Toluol im Wärmekasten belassen. Nach 8 Tagen war eine Spaltung nur zu 3,6 Proz. eingetreten. (Möglicherweise wird durch Erhöhung der Fermentmenge eine umfangreichere Hydrolyse zu erzielen sein.)

### B. Versuche mit Benzoyl-d, l-alanin.

Eine 1 proz. Lösung des Natriumsalzes vom Benzoyl-alanin wurde dadurch hergestellt, daß 1 g der reinen razemischen Verbindung mit Wasser und 5,2 ccm n Natronlauge in Lösung übergeführt und mit Wasser auf ein Volumen von 100 ccm gebracht wurde.

1.

$\alpha$) 1 g Natriumsalz in 100 ccm Wasser wurde mit 0,2 g Ferment und 1 ccm Toluol bei 37° digeriert.

$\beta$) Als Kontrolle hierzu diente ein Ansatz, der 1 g Ferment + 1 ccm Toluol in 100 ccm Wasser enthielt; Temperatur 37°.

$\gamma$) Eine weitere selbstverständliche Gegenprobe bestand darin, daß für das synthetische Benzoyl-d, l-alanin die optische Inaktivität festgestellt war.

Da nun aber das Enzymmaterial selbst drehende Substanzen enthält, so kommt es, daß der Kontrollansatz $\beta$) (mit dem Ferment ohne das Substrat) gleichfalls Aktivität aufwies.

Die sich ergebenden Zahlen waren folgende:

| Drehung | Hauptansatz $\alpha$ | Kontrolle $\beta$ |
|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | — 0,19 | — 0,19 |
| Nach 15 Stunden . . | — 0,29 | — 0,22 |
| „ 39 „ . . | — 0,40 | — 0,22 |
| „ 63 „ . . | — 0,45 | — 0,22 |
| „ 96 „ . . | — 0,50 | — 0,22 |

Die Benzoesäure, die während der Digestion abgespalten worden ist, wurde nach Ansäuern mit Petroläther extrahiert und dann zur Wägung gebracht. Nach 4 Tagen hatte die Spaltung, berechnet aus der gewogenen Benzoesäuremenge, 45,6 Proz. erreicht.

2.

α) 1 g Benzoyl-d, l-alanin-natrium in 100 ccm Wasser, 1 ccm Toluol + 1 g Enzym, das einer neu bezogenen Probe entstammte und sich in seinen optischen Eigenschaften etwas anders verhielt. Temperatur 37°.

β) Kontrolle. 1 g dieses Fermentmaterials + 100 ccm Wasser + 1 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Drehung | Hauptansatz α | Kontrolle β |
|---|---|---|
| Sofort . . . . . . . | + 0,58 | + 0,58 |
| Nach 2 Tagen . . . | + 0,06 | + 0,50 |
| „ 3 „ . . . | + 0,04 | + 0,50 |
| „ 5 „ . . . | + 0,04 | + 0,52 |

Die Quantität der abgespaltenen Benzoesäure machte 52,5 Proz. der theoretischen Möglichkeit aus.

Bei dem Benzoyl-d, l-alanin (F. 163°) glückte auch die Zerlegung des Bariumsalzes, allerdings müssen wir bemerken, daß hierzu eine neue Probe frischen Ferments gedient hatte, so daß vielleicht der erwähnte ungünstige Befund beim hippursauren Barium (s. S. 374) auch auf Schwächung des Enzyms durch Altern bezogen werden muß.

0,6 g Benzoyl-d, l-alanin-barium wurden in 60 ccm Wasser mit 1,2 g Ferment sowie 0,6 ccm Toluol 4 Tage lang im Brutschrank bei 37° belassen; dann wurde filtriert, mit Schwefelsäure angesäuert und das ausgefallene Bariumsulfat durch Filtration entfernt.

Aus der klaren Flüssigkeit wurde zunächst mit Petroläther die abgespaltene Benzoesäure ausgeschüttelt; erhalten wurden 51 Proz. der Theorie.

Die hinterbliebene wässerige Flüssigkeit wurde nunmehr mit warmem Essigäther extrahiert, der den ungespaltenen Anteil von Benzoyl-alanin aufnahm. Nach dem Verdampfen des Essigäthers blieb eine gelbliche Substanz zurück, die aus Wasser unter Zusatz von ein wenig Tierkohle umkristallisiert wurde. Die Lösung dieses Körpers in Lauge zeigte eine beträchtliche Linksdrehung, die dem rein erhältlichen l-Benzoyl-alanin (F. 147°) zukommt.

Genaue Angaben über diese asymmetrische Spaltung wird in einer nachfolgenden Mitteilung Herr *C. Hoppert* machen[1]).

[1]) Auch über die Zerlegung von Amygdalin durch Takadiastase soll demnächst berichtet werden.

Wie grundverschieden die Arbeitsweise mit isoliertem Ferment von dem Verfahren der Pilzkultivierung ist, bei der ja die eine aktive Modifikation der Aminosäure überhaupt der Zerstörung anheimfällt, geht gerade im Falle des Alanins u. a. auch daraus hervor, daß nach *E. Fischer*[1]) durch Züchtung eines verwandten Schimmelpilzes auf d,l-Alaninlösungen die Aussicht, zu reinem l-Alanin zu gelangen, nicht sehr groß ist. In formaler Hinsicht hat das biochemische Prinzip eine gewisse Analogie mit der Alkaloidmethode zur Trennung von optischen Antipoden. Verwiesen sei auf eine in jüngster Zeit gemachte interessante Beobachtung von *Dakin*[2]) an der razemischen Äpfelsäure. Bei dieser gelang eine besonders glatte Aufteilung in beide Komponenten mit einem einzigen Alkaloid (Cinchonin) auf Grund der ungleichen Löslichkeit, die das saure l- und d-Malat in zwei verschiedenen Solventien zeigt. Hier wie dort ermöglicht *ein* asymmetrisches Agens (Ferment, Alkaloid) die Gewinnung *beider* Raumformen. Beziehungen bestehen vielleicht auch zu *Marckwald* und *McKenzies*[3]) bekannten asymmetrischen Synthesen. Bei denselben sind die voneinander abweichenden Geschwindigkeiten ausschlaggebend, nach denen ein aktiver Zusatzkörper mit den beiden entgegengesetzt drehenden Gebilden reagiert. Man kann sich vorstellen, daß etwa Ferment und d-Benzoyl-alanin schnell, Enzym und l-Benzoyl-alanin außerordentlich langsam, in praxi gar nicht, zusammentreten.

---

[1]) *E. Fischer*, Ber. 32, 2459, 1899.
[2]) *H. D. Dakin*, Journ. of biol. Chem. 59, 7, 1924.
[3]) *W. Marckwald* und *A. McKenzie*, Ber. 32, 2130, 1899.

# Chemische und physiologische Untersuchungen über Wismut.

I. Mitteilung:

**Zur Bestimmung des Wismuts.**

Von

**L. Kürthy** (Budapest) und **Hans Müller.**

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

*(Eingegangen am 5. März 1924.)*

**A.**

Das Wismut ist dank den Bemühungen von *Balzer* (1889), *Sauton* (1916), *Robert*, *Lazerat* und *Levaditi* (1921) als Antisyphilitikum in vielfache Anwendung gekommen, ohne daß man bisher über sein Verhalten im Tierkörper hinreichend Bescheid weiß. Bis vor kurzem wurde das Wismut nur als Adstringens und als Kontrastmittel bei der Röntgenuntersuchung angewandt. Die relativ häufigen dabei beobachteten Vergiftungen führten zu der Feststellung, daß nach peroraler Darreichung großer Dosen von Wismut im Körper kleine Mengen zurückgehalten werden, denen zum Teil die Giftwirkung zugeschrieben wurde. Da der Wismutstoffwechsel jetzt ein vermehrtes Interesse verdient, uns expeditive analytische Methoden aber noch fehlen, so haben wir es als unsere nächste Aufgabe angesehen, ein Verfahren auszuarbeiten, um die Ausscheidung auch minimaler Quantitäten im Harn und Kot quantitativ verfolgen zu können.

**B.**

An quantitativen Methoden zur Bestimmung des Wismuts fehlt es nicht: es gibt wohl mehr als ein halbes Dutzend gravimetrische und mindestens ebensoviel maßanalytische Verfahren. Wir haben, als wir eine der üblichen Methoden für die Feststellung kleinster Mengen anzupassen suchten, uns zunächst der *Bestimmung als Phosphat* zugewandt, einerseits weil gerade für die Bestimmung des Phosphations die allersubtilsten Methoden ausgearbeitet sind und weil andererseits wegen des Vorkommens der Phosphationen im Organismus das allgemein physikalisch-chemische Verhalten des Wismutphosphats schon für sich ein allgemein physiologisches Interesse beanspruchen kann. Speziell standen uns dann noch zwei Wege offen: entweder das Wismut in der üblichen Weise als Wismutphosphat zu isolieren, und es dann nicht gravimetrisch, sondern maßanalytisch oder nephelometrisch durch





seinen Phosphatgehalt zu bestimmen, oder den Überschuß an nicht gebundenem Phosphat zu bestimmen und durch Subtraktion von der bekannten zugegebenen Menge die an Wismut gebundene Quantität und damit das Wismut selbst festzustellen.

Schon 1860 schlug *G. Chancel*[1]) das Wismutphosphat zur gravimetrischen Bestimmung der Phosphorsäure vor. Später zeigte *L. Moser*[2]), daß es sich bei seiner Schwerlöslichkeit selbst in ziemlich konzentrierter Salpetersäure in Gegenwart von überschüssigem Ammoniumphosphat vorteilhaft zur Bestimmung des Wismuts neben Cadmium und Kupfer eigne. *A. Staehler* und *W. Scharfenberg*[3]) gelang mit Hilfe des gleichen Prinzips die Trennung von Quecksilber, Silber, Cadmium und Kupfer auch bei Gegenwart von Chlorionen, indem sie in phosphorsaurer Lösung arbeiteten. Zahlenmäßige Angabe über die Löslichkeit des Wismutphosphats in Salpetersäure fanden wir nur in der Preisarbeit von *S. Sendhoff*[4]). Der Verfasser beobachtete, daß die Konzentration der Salpetersäure von wesentlichem Einfluß ist, da eine Säure von höherem spezifischen Gewicht als 1,02 bis 1,03 schon erhebliche Mengen von Wismutphosphat löst.

Da unser Ziel letzten Endes die Bestimmung sehr kleiner Wismutmengen — wie sie etwa während einer Wismuttherapie im Harne vorkommt — war, mußte zuerst die Löslichkeit des Wismutphosphats auch in sehr verdünnter Salpetersäure festgestellt werden. Wir benutzten zu den Versuchen ein Wismutphosphatpräparat, in dessen wässeriger Suspension auch mit den empfindlichsten Reagenzien kein gelöstes Phosphation nachweisbar war. Die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Versuche wurden so ausgeführt, daß jede Probe der Wismutphosphatsuspension während 30 Minuten unter Erwärmen intensiv geschüttelt und nach 24stündigem Stehen im Filtrat mit Hilfe der nachstehend beschriebenen Methode die gelöste Phosphorsäure bestimmt wurde.

| Nr. | $HNO_3$ 2n ccm | Wasser ccm | Gelöstes Bi in 1000 ccm g |
|---|---|---|---|
| 1 | 10 | — | 1,98 |
| 2 | 8 | 2 | 0,96 |
| 3 | 6 | 4 | 0,54 |
| 4 | 4 | 6 | 0,22 |
| 5 | 2 | 8 | 0,082 |
| 6 | 0 | 10 | — |

Der Versuch zeigt, daß unter diesen Bedingungen die Löslichkeit von Wismutphosphat in Salpetersäure doch ganz bedeutend ist.

Nachdem wir uns dann aber überzeugt hatten, daß das Wismutphosphat in gesättigter Natriumnitratlösung absolut unlöslich ist, wiederholten wir den gleichen Versuch derartig, daß wir eine möglichst

---

[1]) C. r. d. l'acad. d. science 50, 416. — [2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. 45, 19, 1906. — [3]) B. B. 38, 3862. — [4]) Diss. Münster 1904.

neutralisierte, d. h. bis zum Beginn der Hydrolyse mit Alkali versetzte Wismutnitratlösung mit überschüssiger Phosphorsäure fällten. Im Filtrat konnte keine Spur Wismut mehr nachgewiesen werden. Damit war die Richtung für die weiteren Versuche gegeben, speziell daß die indirekte Methode der direkten (s. oben) jedenfalls vorzuziehen war.

Wir untersuchten nun die Möglichkeit einer indirekten Bestimmung des Wismuts, d. h. durch Fällen mit einer genau bekannten Menge Phosphat und Bestimmung der überschüssig zugesetzten Phosphorsäure den Gehalt an Wismut zu berechnen. Zu diesen Versuchen verwendeten wir die speziell zur Mikroanalyse vorzüglich geeignete Phosphatbestimmungsmethode von *Doisy* und *Bell*, welcher bekanntlich folgendes Prinzip zugrunde liegt: die Phosphatlösung wird mit Molybdänsäure versetzt und die gebildete Phosphormolybdänsäure mit Hydrochinon in sodaalkalischer Lösung reduziert. Die entstehende Blaufärbung vergleicht man im Kolorimeter mit einer Standardlösung von bekanntem Gehalt.

Zur Wismutbestimmung muß der Gehalt an Wismut annähernd bekannt sein. Soll eine Lösung von unbekannter Konzentration analysiert werden, so gelingt es nach kurzer Übung leicht, durch Fällen einer kleinen Probe mit überschüssigem Schwefelwasserstoff den Gehalt annähernd zu schätzen. Auch die Intensität der Gelbfärbung, die Kaliumjodid mit Wismutionen erzeugt, kann unter Umständen dazu benutzt werden, doch können hierbei aus Gründen, die später erörtert werden sollen, große Fehler entstehen, so daß der Nachweis mit Schwefelwasserstoff sicherer und allgemeiner verwendbar ist. Nach unseren Beobachtungen versagt letzterer nur bei Gegenwart von viel freier Salzsäure. Man neutralisiert daher am zweckmäßigsten die Probe vor der Schwefelwasserstoff-Fällung mit einem Überschuß von Alkali, unbekümmert um ein eventuelles Ausflocken von Hydroxyd.

Je nach der Menge Wismut muß die Konzentration der Phosphatlösung gewählt werden. Da sich die Reaktion in äquimolaren Verhältnissen vollzieht, haben wir uns als Phosphatstandardlösung eine Lösung hergestellt, die im Liter 4,257 g $(NH_4)_2HPO_4$ enthält. Jeder Kubikzentimeter dieser Lösung entspricht 1 mg Phosphor und fällt 6,5485 mg Wismut. Nach unseren Versuchen genügt ein relativ geringer Überschuß an Phosphat, um das Wismut quantitativ zu fällen. Aus methodischen Gründen aber empfiehlt es sich, immer ungefähr mit einem doppelten Überschuß zu arbeiten. Die in den folgenden Tabellen zusammengestellten Protokolle sind wahllos einer sehr großen Anzahl von Versuchsreihen entnommen.

### Methodik.

In einem passenden Zentrifugenglas wird die genau abgemessene Menge der zu analysierenden Wismutlösung mit einem bekannten Überschuß von Phosphatlösung versetzt. Da in der Regel saure Wismut-

lösungen vorliegen, so kann schon die geringe Löslichkeit des Wismutphosphats in starken Mineralsäuren erhebliche Fehler verursachen. Die Wismutlösung muß deshalb *vor* der Fällung im Zentrifugenglas möglichst neutralisiert werden. Man setzt so lange vorsichtig verdünnte Natronlauge zu, bis eben eine leichte Opaleszenz eintritt. Diese schwache Trübung wird mit einem Tropfen verdünnter Salpetersäure wieder gelöst, und die so vorbereitete Lösung mit Ammoniumphosphat gefällt. Selbstverständlich muß das Totalvolumen genau bekannt sein, so daß auch das Volumen der zugesetzten Natronlauge gemessen werden muß. Nach einer Stunde wird zentrifugiert und von der überstehenden klaren Lösung je nach der Menge der überschüssigen Phosphorsäure $^1/_5$ bis $^4/_5$ des Gesamtvolumens in einen Meßzylinder von 25 ccm genau eingefüllt. Gleichzeitig mißt man sich in zwei weitere Meßzylinder von einer Lösung, die im Liter 0,4257 g $(NH_4)_2HPO_4$ oder 0,4387 g $KH_2PO_4$ enthält, in den ersten 1 ccm, in den zweiten 2 ccm, entsprechend 0,1 und 0,2 mg Phosphor und verdünnt alle drei Lösungen mit Wasser auf 10 ccm. Dann wird je 1 ccm Molybdänsäure (50 g Ammoniummolybdat in 1000 ccm normaler Schwefelsäure) und 2 ccm Hydrochinonlösung (20 g Hydrochinon + 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure im Liter) zugesetzt, umgeschüttelt und 5 Minuten stehengelassen. Nach dieser Zeit wird mit 10 ccm Carbonatsulfitlösung (200 ccm 20proz. $Na_2CO_3$ + 50 ccm 15proz. $Na_2SO_3$) alkalisch gemacht, mit Wasser auf 25 ccm aufgefüllt und im Kolorimeter verglichen.

*Berechnung:*

$$\frac{\text{Stand der Vergleichslösung . angewandte Menge Vergleichsphosphor}}{\text{Stand der Versuchslösung}}$$

ergibt Milligramm Phosphor in dem aus dem Zentrifugenglas abgemessenen Teil. Umgerechnet auf das Gesamtvolumen wird diese Zahl von der ursprünglich zugesetzten Menge Phosphor subtrahiert. Diese Differenz multipliziert mit 6,5485 ergibt Milligramm Wismut.

Die Versuche in den nachstehenden Tabellen wurden mit folgenden Lösungen ausgeführt:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Tabelle I. | $(NH_4)_2HPO_4$: | 0,4138 Proz. in bezug auf | P |
| | $Bi(NO_3)_3$: | 2,08 „ „ „ „ | Bi |
| Tabelle II. | $(NH_4)_2HPO_4$: | 0,04138 „ „ „ „ | P |
| | $Bi(NO_3)_3$: | 0,208 „ „ „ „ | Bi |
| Tabelle III. | $(NH_4)_2HPO_4$: | 0,04138 „ „ „ „ | P |
| | $Bi(NO_3)_3$: | 0,170 „ „ „ „ | Bi |
| Tabelle IV. | $(NH_4)_2HPO_4$: | 0,0433 „ „ „ „ | P |
| | $Bi(NO_3)_3$: | 0,170 „ „ „ „ | Bi |
| Tabelle V. | $(NH_4)_2HPO_4$: | 0,004138 „ „ „ „ | P |
| | $Bi(NO_3)_3$: | 0,0170 „ „ „ „ | Bi |
| Tabelle VI. | $(NH_4)_2HPO_4$: | 0,00421 „ „ „ „ | P |
| | $Bi(NO_3)_3$: | 0,0170 „ „ „ „ | Bi |

Die Werte für Phosphor und Wismut sind alle in Milligrammen angegeben.

*Tabelle I.*

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ ccm | $(NH_4)_2HPO_4$ ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,0 | 5,0 | 10 | 20,70 | 5,56 | 15,13 | 104,0 | 101,5 |
| 2 | 5,0 | 5,0 | 10 | 20,70 | 5,50 | 15,19 | 104,0 | 102,0 |

*Tabelle II.*

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ ccm | $(NH_4)_2HPO_4$ ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,07 | 0,87 | 1,20 | 10,40 | 8,10 |
| 2 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,07 | 0,72 | 1,35 | 10,40 | 9,10 |
| 3 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,07 | 0,87 | 1,20 | 10,40 | 8,10 |
| 4 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,07 | 0,85 | 1,22 | 10,40 | 8,19 |
| 5 | $3 + 2 H_2O$ | $3 + 2 H_2O$ | 10,0 | 1,24 | 0,375 | 0,865 | 6,24 | 5,80 |
| 6 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 2,07 | 1,32 | 0,75 | 5,20 | 5,30 |
| 7 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 2,07 | 1,41 | 0,66 | 5,20 | 4,43 |
| 8 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 2,07 | 1,39 | 0,68 | 5,20 | 4,56 |
| 9 | $1 + 4 H_2O$ | $1 + 4 H_2O$ | 10,0 | 0,413 | 0,123 | 0,291 | 2,08 | 1,95 |

*Tabelle III.*

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ ccm | $(NH_4)_2HPO_4$ ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,07 | 1,0 | 1,07 | 8,50 | 7,18 |
| 2 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,07 | 1,0 | 1,07 | 8,50 | 7,18 |
| 3 | $3 + 2 H_2O$ | $3 + 2 H_2O$ | 10,0 | 1,24 | 0,6 | 0,64 | 5,10 | 4,30 |
| 4 | $1 + 4 H_2O$ | $1 + 4 H_2O$ | 10,0 | 0,413 | 0,192 | 0,221 | 1,70 | 1,48 |
| 5 | $1 + 4 H_2O$ | $1 + 4 H_2O$ | 10,0 | 0,413 | 0,200 | 0,213 | 1,70 | 1,43 |

*Tabelle IV.*

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ ccm | $(NH_4)_2HPO_4$ ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,165 | 1,0 | 1,165 | 8,50 | 7,82 |
| 2 | 5,0 | 5,0 | 10,0 | 2,165 | 1,0 | 1,165 | 8,50 | 7,82 |
| 3 | $3 + 2 H_2O$ | $3 + 2 H_2O$ | 10,0 | 1,299 | 0,6 | 0,699 | 5,10 | 4,69 |
| 4 | $1 + 4 H_2O$ | $1 + 4 H_2O$ | 10,0 | 0,433 | 0,192 | 0,241 | 1,70 | 1,62 |
| 5 | $1 + 4 H_2O$ | $1 + 4 H_2O$ | 10,0 | 0,433 | 0,20 | 0,233 | 1,70 | 1,56 |

*Tabelle V.*

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ ccm | $(NH_4)_2HPO_4$ ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,207 | 0,152 | 0,055 | 0,425 | 0,361 |
| 2 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,207 | 0,152 | 0,055 | 0,425 | 0,361 |
| 3 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,207 | 0,148 | 0,059 | 0,425 | 0,395 |
| 4 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,207 | 0,149 | 0,058 | 0,425 | 0,389 |
| 5 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,207 | 0,143 | 0,064 | 0,425 | 0,43 |
| 6 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,207 | 0,143 | 0,064 | 0,425 | 0,43 |

*Tabelle VI.*

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ ccm | $(NH_4)_2HPO_4$ ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,211 | 0,152 | 0,059 | 0,425 | 0,396 |
| 2 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,211 | 0,152 | 0,059 | 0,425 | 0,396 |
| 3 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,211 | 0,148 | 0,063 | 0,425 | 0,423 |
| 4 | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 0,211 | 0,149 | 0,062 | 0,425 | 0,416 |

Wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, weichen die erhaltenen Resultate in vielen Fällen ganz erheblich von den theoretischen Werten ab, während andere wieder sehr gute Übereinstimmung zeigen. Bei näherer Betrachtung ergibt sich aber die schon früher betonte Tatsache, daß überall, wo der Überschuß an Phosphat größer ist, auch die Genauigkeit steigt. Mit anderen Worten spielt doch die Löslichkeit des Wismutphosphats eine große Rolle, deren Vermeidung nur mit einem relativ großen Überschuß an Ammoniumphosphat erreicht werden kann. Folgendes Protokoll veranschaulicht die Verhältnisse noch

deutlicher. Um das Wismutphosphat grobkörnig, also möglichst unlöslich zu fällen, wurden die Zentrifugengläser während einer halben Stunde auf dem Wasserbade erhitzt.

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ 0,015 Proz. ccm | $KH_2PO_4$ 0,013 Proz. ccm | Totalvolumen ccm | mg P zugesetzt | mg P wiedergef. | Differenz entspr. Bi | mg Bi zugesetzt | mg Bi wiedergef. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 2 | 7 | 0,26 | 0,152 | 0,108 | 0,75 | 0,681 |
| 2 | 5 | 4 | 9 | 0,52 | 0,410 | 0,110 | 0,75 | 0,720 |
| 3 | 5 | 6 | 11 | 0,78 | 0,669 | 0,111 | 0,75 | 0,730 |
| 4 | 5 | 8 | 13 | 1,04 | 0,926 | 0,114 | 0,75 | 0,747 |
| 5 | 5 | 10 | 15 | 1,30 | 1,185 | 0,115 | 0,75 | 0,753 |

## C.

Da es somit gelingt, mit Hilfe von Phosphat das Wismut auch auf Zehntel Milligramme, trotz des hohen Atomgewichtes (!), genau zu bestimmen, haben wir ungekehrt versucht, diese Methode zur *volumetrischen Bestimmung von Phosphorsäure* auszuarbeiten.

Die Phosphattitration, wie sie heute wohl am allgemeinsten ausgeführt wird, beruht auf der Fällung mittels einer eingestellten Lösung von Uranylacetat unter Verwendung von Cochenille oder Kaliumferrocyanid als Indikator. Die Methode liefert sehr gute Resultate, doch erfordert die Beurteilung des Umschlagpunktes einige Übung. Auch der relativ hohe Preis der Uransalze ließ es uns wünschenswert erscheinen, nach einer Methode mit billigerem Ausgangsmaterial zu suchen.

Wir prüften die Möglichkeit, das Phosphation quantitativ mit einer m/10 Wismutnitratlösung zu fällen. Als Indikator wurde eine 5proz. Kaliumjodidlösung verwendet, nachdem sich gezeigt hatte, daß die Chininkaliumjodidverbindung trotz der intensiven Färbung des Wismutkomplexes nicht zu verwenden war. Rein qualitativ konnte schon festgestellt werden, daß die Menge des zugesetzten Jodkaliums von großer Bedeutung war. Offenbar stellt sich bei erheblichen Jodkaliummengen ein Gleichgewicht $Bi^{\cdots} \begin{matrix} \nearrow BiPO_4 \\ \searrow BiOJ \end{matrix}$ ein (unter Weglassung aller übrigen Ionen), das aber erst bei einer gewissen Konzentration an Jodionen erkennbar wird und dann bei zunehmender Menge Kaliumjodid im Sinne des unteren Pfeiles verschoben wird. Wie die folgende Tabelle lehrt, bestätigte der quantitative Versuch diese Beobachtung.

Lösungen: m/10 $Bi(NO_3)_3$ in 0,7 n $HNO_3$, m/10 $KH_2PO_4$, 5 Proz. KJ.

| Nr. | $KH_2PO_4$ ccm | KJ ccm | $Bi(NO_3)_3$ ccm | Umschlag |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 0,02 | 9,95 | deutlich in Gelb |
| 2 | 10 | 0,04 | 10,05 | " " " |
| 3 | 10 | 0,06 | 9,9 | " " " |
| 4 | 10 | 0,08 | 9,6 | " " " |
| 5 | 10 | 0,10 | 9,3 | " " " |
| 6 | 10 | 0,20 | — | 1 Tropfen erzeugt Schwarzfärbung |
| 7 | 10 | 1,00 | — | 1 " " " |

Daraus geht deutlich hervor, daß bei Verwendung von 1 bis 2 Tropfen KJ-Lösung mit Leichtigkeit genaue Resultate erzielt werden, daß aber ein größerer Überschuß an Jodkalium zu ganz falschen Werten führt. Weitere Versuche lehrten, daß auch die Konzentration an Salpetersäure eine wesentliche Rolle spielt. Kleine Mengen davon sind nötig, weil dadurch die Intensität der Gelbfärbung mit Jodkalium sehr verstärkt wird. Andererseits stört eine größere Salpetersäurekonzentration, weil offenbar dann die Bildung von BiOJ auf Kosten des $BiPO_4$ stark begünstigt wird. Da die Wismutnitratlösung schon selbst ziemlich stark salpetersauer ist[1]), so soll die zu analysierende Lösung keine freie Salpetersäure enthalten bzw. sie soll vorher neutralisiert werden. Selbstverständlich ist es auch hier aus den schon angeführten Gründen ausgeschlossen, bei Gegenwart von Chlorionen genaue Resultate zu erhalten. Es sei ausdrücklich betont, daß nicht nur freie Salzsäure, sondern ganz allgemein die Chloride hemmen. Dabei kommt neben der Löslichkeit des Wismutphosphats in Chlorionenlösungen noch die Wechselwirkung zwischen Wismutoxyjodid in Betracht. Wir werden in einer späteren Mitteilung noch näher auf die Sonderstellung der Chlorionen eingehen und beschränken uns, hier an Hand von Versuchen zu zeigen, daß einerseits Wismutphosphat in erstaunlich großer Menge in Kochsalz löslich ist, andererseits der Nachweis des Wismuts mittels Jodkaliums bei Gegenwart von Kochsalz unsicher wird oder vollständig versagt.

Löslichkeit von Wismutphosphat in Natriumchlorid.

| Nr. | NaCl gesättigt ccm | Wasser ccm | Gelöstes Wismut in 1000 ccm g |
|---|---|---|---|
| 1 | 10 | — | 5,45 |
| 2 | 8 | 2 | 3,69 |
| 3 | 6 | 4 | 3,30 |
| 4 | 4 | 6 | 2,56 |
| 5 | 2 | 8 | 0,201 |
| 6 | — | 10 | — |

[1]) Wir überzeugten uns, daß die Wismutnitratlösung in bezug auf die Salpetersäurekonzentration 0,7 n sein muß. Unter diesen Umständen ist sie wochenlang haltbar, ohne daß sich der Titer durch eintretende Hydrolyse ändert. Außerdem kann eine solche Wismutnitratlösung beliebig mit Wasser verdünnt werden, so daß bei der Titration einer neutralen Phosphatlösung keine Hydrolyse zu befürchten ist.

Grenze der Nachweisbarkeit von Wismut mittels Jodkalium.

| Nr. | $Bi(NO_3)_3$ | 5 Proz. KJ ccm | $HNO_3$ 2 n Tropfen | Gelbfärbung |
|---|---|---|---|---|
| 1 | m/100 000 10 ccm | 1 | 1 | |
| 2 | m/200 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 3 | m/300 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 4 | m/400 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 5 | m/500 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 6 | m/600 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 7 | m/700 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 8 | m/800 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 9 | m/900 000 10 „ | 1 | 1 | |
| 10 | m/1 000 000 10 „ | 1 | 1 | |

Einfluß von NaCl auf die Gelbfärbung zwischen $Bi^{\cdots}$ und $J'$.

| Nr. | Gesättigte NaCl ccm | $H_2O$ ccm | $Bi(NO_3)_3$ m/10 ccm | 5 proz. KJ ccm | Färbung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 0 | 1 | 1 | — |
| 2 | 8 | 2 | 1 | 1 | schwach |
| 3 | 6 | 4 | 1 | 1 | intensiv |
| 4 | 4 | 6 | 1 | 1 | „ |
| 5 | 2 | 8 | 1 | 1 | „ |
| 6 | 0 | 10 | 1 | 1 | „ |

Trotz dieser Einschränkung glauben wir, diese Methode empfehlen zu dürfen, weil sie sich außerordentlich gut eignet, in kürzester Zeit den Gehalt von reinen Phosphatlösungen, z. B. den *Sörensen*schen, die ja heute in jedem biologischen Laboratorium als Puffersystem verwendet werden, mit großer Genauigkeit zu bestimmen.

## Methodik.

Die zu analysierende Phosphatlösung wird in einem Spitzglas mit einem Tropfen 5proz. Kaliumjodidlösung versetzt und unter Umrühren mit einer m/10 Wismutnitratlösung titriert. Erforderlich ist helles Tageslicht. Die bei jeder Zugabe auftretende Gelbfärbung verschwindet so lange prompt, als noch ionisierte Phosphorsäure vorhanden ist. Ein Tropfen überschüssige Wismutnitratlösung erzeugt dauernde Gelbfärbung, die besonders leicht nach dem Absetzen des Niederschlages in der überstehenden Lösung erkannt wird.

Wir haben uns in den Kursen unserer Anstalt überzeugt, daß selbst Anfänger in der Maßanalyse mit dieser Methode richtige Werte erhalten.

## Chemische und physiologische Untersuchungen über Wismut.

II. Mitteilung:

**Über die Neigung des Wismuts zur Bildung von Komplexsalzen.**

Von

**Hans Müller** und **L. Kürthy** (Budapest).

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

*(Eingegangen am 5. März 1924.)*

Wir haben in der vorangegangenen Mitteilung gesehen, daß das in Wasser unlösliche Wismutphosphat bei Gegenwart von Chlorionen erheblich löslich ist, vermutlich unter Bildung einer Komplexverbindung. Die schon hervorgehobene Bedeutung dieser Tatsache für den Wismutstoffwechsel hat uns veranlaßt, der Frage ganz allgemein näherzutreten und die Bildung von Wismutkomplexsalzen ausführlicher zu untersuchen. Wir werden sehen, daß diese Erfahrungen auch analytisches Interesse haben, weil sie die Gründe für ein Versagen von Methoden angeben, die bisher zur Bestimmung des Wismuts angewandt worden sind.

Zunächst fiel uns auf, daß die Reaktion von Wismutharnen (von Patienten, die mit Wismut behandelt waren, aber auch von Harnen, die mit Wismutsalz versetzt waren) gegen Schwefelwasserstoff nach und nach schwächer wurde und mit der Zeit vollkommen verschwand. Diese für den quantitativen wie qualitativen Nachweis des Wismuts wichtige Beobachtung kann zwei Gründe haben: man kann sich vorstellen, daß das Wismut im Harn als äußerst feines oder sogar kolloidales Wismutphosphat lange Zeit suspendiert bleibt, in dieser Form selbstverständlich mit Schwefelwasserstoff noch nachweisbar ist, daß es aber mit der Zeit kristallin wird, sich absetzt und so dem Nachweis entgeht. Die zweite Möglichkeit wäre die Bildung von stabilen Komplexen, in denen das Wismut nicht mehr in ionisierter Form vorhanden ist.

Die folgende Zusammenstellung zeigt die Verhältnisse in einem normalen Harn, dem steigende Mengen Wismut zugesetzt wurden.



Zu allen folgenden Versuchen wurde eine salpetersaure Wismutnitratlösung verwendet, die in jedem Verhältnis mit Wasser verdünnt werden konnte ohne zu hydrolysieren.

*Tabelle I.*

| Nr. | Harn ccm | Bi mg | Reaktion gegen Schwefelwasserstoff nach 2 Min. | 1 Std. | 4 Std. | 8 Std. | 21 Std. | 3 Tagen | 4 Tagen | 5 Tagen | 6 Tagen | 7 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 0,68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 10 | 1,36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 10 | 2,04 | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 10 | 2,72 | + | ± | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 10 | 3,40 | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 10 | 4,08 | + | + | + | + | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 10 | 4,76 | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 10 | 5,44 | ++ | ++ | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 10 | 6,12 | ++ | ++ | ++ | + | + | ± | ± | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 10 | 6,80 | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | ± | ± | 0 | 0 |
| 11 | 10 | 8,16 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | ± | 0 | 0 |
| 12 | 10 | 10,20 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | ± | ± | 0 |

0 = negativ. ± = sehr schwach (Spuren). + = schwach. ++ = ziemlich stark. +++ = stark. ++++ = sehr stark.

Eine Phosphatbestimmung in dem verwendeten Harn zeigte, daß selbst in der wismutreichsten Probe (Nr. 12) noch ein etwa 12facher Überschuß von Phosphorsäure vorhanden war, eine Versuchsbedingung, die in wässeriger Lösung augenblicklich zur vollständigen Fällung des Wismuts geführt hätte.

Es lag nahe, dieses eigenartige Lösungsvermögen des Harns durch die Anwesenheit von Chlorionen zu erklären. Wir wiederholten deshalb den gleichen Versuch derart, daß wir dem gleichen Harn unter sonst gleichen Bedingungen Kochsalz, Glykokoll und Salpetersäure zusetzten. Die Einwirkung zeigen die folgenden drei Tabellen:

*Tabelle II.*

| Nr. | Harn ccm | Bi mg | NaCl gesättigt ccm | Reaktion gegen Schwefelwasserstoff nach 10 Min. | 2 Std. | 6 Std. | 19 Std. | 2 Tagen | 4 Tagen | 5 Tagen | 6 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 1,36 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 10 | 2,72 | 1 | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| 3 | 10 | 4,08 | 1 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 4 | 10 | 5,44 | 1 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 5 | 10 | 6,80 | 1 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + |
| 6 | 10 | 17,00 | 1 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | ± |
| 7 | 10 | 68,00 | 1 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | + | + | + |

*Tabelle III.*

| Nr. | Harn ccm | Bi mg | $HNO_3$ konz. ccm | Reaktion gegen Schwefelwasserstoff nach 10 Min. | 2 Std. | 6 Std. | 19 Std. | 2 Tagen | 4 Tagen | 5 Tagen | 6 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 1,36 | 1 | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| 2 | 10 | 2,72 | 1 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3 | 10 | 4,08 | 1 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 4 | 10 | 5,44 | 1 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 5 | 10 | 6,80 | 1 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 6 | 10 | 17,00 | 1 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 7 | 10 | 68,00 | 1 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

*Tabelle IV.*

| Nr. | Harn ccm | Bi mg | Glykokoll ccm | Reaktion gegen Schwefelwasserstoff nach 10 Min. | 2 Std. | 6 Std. | 19 Std. | 2 Tagen | 4 Tagen | 5 Tagen | 6 Tagen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 1,36 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 10 | 2,72 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 10 | 4,08 | 1 | ± | ± | ± | ± | ± | ± | 0 | 0 |
| 4 | 10 | 5,44 | 1 | + | + | + | ± | ± | ± | ± | ± |
| 5 | 10 | 6,80 | 1 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± |
| 6 | 10 | 17,00 | 1 | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 10 | 68,00 | 1 | + | + | ± | ± | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tatsächlich ist das Lösungsvermögen des Kochsalzes aus Tabelle II leicht ersichtlich und entspricht auch den entsprechenden Resultaten unserer ersten Mitteilung.

Tabelle III gibt an, daß alles Wismut bei Zusatz von Salpetersäure in Lösung bleibt. Scheinbar läßt sich diese Tabelle leicht mit der Löslichkeit des Wismutphosphats in Salpetersäure erklären. Vergleicht man aber die einzelnen Proben zahlenmäßig mit dem früher mitgeteilten Lösungsvermögen der Salpetersäure, so zeigt sich, daß eine etwa zehnmal größere Menge Wismutphosphat gelöst bleibt, als der Wirkung reiner Salpetersäure von gleicher Konzentration zugeschrieben werden könnte. Auch auf Grund dieses Resultats könnte an Komplexbildung des Wismutphosphats mit einem Harnbestandteil gedacht werden. Überraschend sind die Ergebnisse der Tabelle IV. Dieser Versuch wurde zur Prüfung der Frage angesetzt, ob die im Harn vorkommenden Aminosäuren als Lösungsgenossen in Betracht kommen. Merkwürdigerweise äußert sich die Wirkung des Glykokolls nicht linear mit zunehmender Konzentration an Wismut. In den Proben 1 und 2 findet vollständige Ausfällung statt, dann aber tritt gegenüber dem Nullversuch, wie wir Tabelle I bezeichnen wollen, eine ganz erhebliche Verzögerung ein, während bei weiter steigender Wismutkonzentration wieder die umgekehrte Reaktion stattfindet. Dieses zunächst nicht

leicht verständliche Verhalten des Glykokolls studierten wir an folgendem Modellversuch:

*Tabelle V.*

| Nr. | Glykokoll g | $Bi(NO_3)_3$ ccm | Hydrolyse | Zugesetztes Bi g | Elektrolytisch bestimmtes Bi g | Durch Hydrolyse ausgefälltes Bi g |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,005 | 10 | — | 0,134 | 0,1337 gelöst | — |
| 2 | 0,01 | 10 | — | 0,134 | 0,1340 " | — |
| 3 | 0,05 | 10 | × | 0,134 | 0,1110 " | 0,023 |
| 4 | 0,10 | 10 | ×× | 0,134 | 0,0788 " | 0,0552 |
| 5 | 0,20 | 10 | ××× | 0,134 | 0,0448 " | 0,0892 |
| 6 | 0,40 | 10 | × | 0,134 | 0,1022 " | 0,0318 |
| 7 | 0,80 | 10 | — | 0,134 | 0,1342 " | — |
| 8 | 1,60 | 10 | — | 0,134 | 0,1333 " | — |
| 9 | 3,20 | 10 | — | 0,134 | 0,1335 " | — |

Daraus geht hervor, daß, sobald eine bestimmte Konzentration an Glykokoll erreicht ist, eine sehr starke Hydrolyse des Wismutsalzes eintritt. Bei noch größerer Menge tritt scheinbar keine Veränderung ein. Daß aber in den Proben 7 bis 9 das Wismut zum größten Teil nicht mehr als normales Kation vorhanden ist, könnte folgender Versuch vermuten lassen: Bekanntlich löst sich Wismutchlorid in Natriumchlorid ohne Hydrolyse. Ein durch Wasser hydrolysiertes Wismutsalz kann durch Natriumchloridzusatz wieder gelöst werden. Wird nun aber eine der Proben 7 bis 9 mit wenig Kochsalz versetzt, so tritt augenblicklich starke Ausfällung ein, die auch mit mehr Kochsalz und durch anhaltendes Kochen nicht mehr in Lösung geht. Umgekehrt wird in gesättigter Kochsalzlösung gelöstes Wismut durch Spuren von Glykokoll ebenso prompt gefällt. Auch in überschüssigem Glykokoll löst sich der Niederschlag nicht. Ferner fanden wir, daß Wismutoxychlorid in wenig Glykokoll unlöslich, in einem Überschuß aber leicht löslich ist. Diese verwickelten Verhältnisse sind vermutlich darauf zurückzuführen, daß nicht nur das Glykokoll ein ausgesprochener Ampholyt ist, sondern auch das Wismut nicht nur positive Ionen (Wismut und Wismutyl) bilden, sondern auch ein Bestandteil negativ geladener (Komplexe) Ionen sein kann. Natürlich lassen sich, namentlich unter Benutzung der in den Komplexverbindungen mit Kochsalz sowohl wie mit Ampholyten zur Geltung kommenden Nebenvalenzen, leicht Formelbilder aufstellen, die das Verhalten der Wismutlösungen veranschaulichen. Doch wollen wir ihres hypothetischen Charakters wegen davon absehen und uns vorläufig mit der Registrierung der Tatsachen begnügen, wie sie wohl für das physiologische Verhalten im Tierkörper wichtig sind.

Die besonders große Neigung der Wismutsalze zur Bildung von Komplexverbindungen geht endlich aus der nachstehenden Tabelle

hervor, die die Löslichkeit von Wismutoxyd und Wismutnitrat vergleichend darstellt in Lösungen, die schwache Säuren, Salze, Ampholyte und hydroxylreiche Verbindungen enthalten.

Überall zeigt sich, daß das Wismutnitrat viel leichter löslich ist als das Oxyd. Wir machen namentlich wegen der physiologischen Wichtigkeit auf die Versuche mit Milchsäure, Glykokoll und Glucose aufmerksam.

Löslichkeit des Bi, als $Bi_2O_3$ und $Bi(NO_3)_3$.

| Nr. | Lösungsmittel | Gelöste Substanz | Gelöstes Bi in 1000 ccm g |
|---|---|---|---|
| 1 | Na-Acetat (gesättigt) . . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 0,948<br>1,857 |
| 2 | Borsäure (gesättigt) . . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 2,57<br>4,431 |
| 3 | Na-Borat (gesättigt) . . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | unlöslich<br>1,42 |
| 4 | Glykokoll (mol. Lösung) . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | Spur<br>32,22 |
| 5 | Milchsäure (mol. Lösung) . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 4,01<br>23,96 |
| 6 | Na-Lactat (mol. Lösung) . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 3,36<br>30,49 |
| 7 | Äpfelsäure (mol. Lösung) . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 1,24<br>6,19 |
| 8 | Weinsäure (mol. Lösung) . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 1,34<br>8,45 |
| 9 | Seignettesalz (mol. Lösung) | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | 4,04<br>11,03 |
| 10 | Glycerin . . . . . . . . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | Spur<br>10,30 |
| 11 | Glucose (mol. Lösung) . . . | $Bi_2O_3$<br>$Bi(NO_3)_3$ | unlöslich<br>17,60 |



# Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

**Leon Asher.**

Nr. 62.

## Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Drüsen mit innerer Sekretion auf die Wachstumsvorgänge, zugleich Beiträge zum Konstitutionsproblem.

I. Mitteilung:

### Der Einfluß des Ovariums und der Schilddrüse auf die Regeneration der weißen und der roten Blutkörperchen.


Von

**Kiyoshi Furuya.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)



*(Eingegangen am 8. März 1924.)*


Mit 14 Abbildungen im Text.

Derjenige Einfluß, den die Drüsen mit innerer Sekretion auf den Organismus haben, welcher von allen der sinnfälligste ist, ist der auf das Wachstum. So viel Zweifel auch über die mannigfachen, den Drüsen mit innerer Sekretion zugeschriebenen Leistungen geäußert werden, am geringsten sind sie in bezug auf die Wachstumsvorgänge. Daß die letzteren in erster Linie mit den Methoden der Morphologie untersucht werden, ist klar. Um weiter fortzuschreiten und tiefer in die Geschehnisse einzudringen, wird es aber erforderlich sein, diese Vorgänge mit Hilfe von experimentellen Methoden zu analysieren. Hierbei darf man hoffen, dem eigentlichen Funktionellen bei den Wachstumsvorgängen etwas näher zu kommen. Die Wachstumsvorgänge sind etwas sehr Kompliziertes, das Baumaterial ist ein chemisches und die bloße Bereitung dieses Baumaterials ist der Abschluß eines sehr komplizierten funktionellen Geschehens. Erst hierauf setzt sich das Architektonische auf, dem wiederum ein räumlicher und zeitlicher Plan zugrunde liegen muß, was nur unter Innehaltung eines funktionell geordneten Geschehens ermöglicht werden kann. Das, was durch die Wachstumsvorgänge erreicht wird, macht außerdem noch einen sehr erheblichen Teil von dem aus, was man landläufig

als Konstitution bezeichnet. Wenn der Ausdruck Konstitution gebraucht wird, so wird meist darunter etwas gemeint, was in der Anschauung letztlich auf etwas Morphologisches hinausläuft. Hiermit ist aber weder für das Verständnis des Physiologischen, noch vor allem des Pathologischen viel gewonnen. Ein tieferes Eindringen fordert die Analyse durch das Experiment. Die experimentelle Untersuchung der Beziehung zwischen Konstitution und Drüsen mit innerer Sekretion, eine Beziehung, die ja vielfach als eine ganz wesentliche behauptet wird, verspricht daher eine wohl sehr erwünschte Abklärung.

Die kurzen Ausführungen mögen genügen, um die Kompliziertheit der Probleme anzudeuten. Bei dieser Sachlage ist es notwendig, mit einem möglichst einfachen und scharf formulierbaren Problem einen Anfang zu machen. In dieser ersten Untersuchung wird die Beziehung zwischen Regeneration der roten und der weißen Blutkörperchen und zwei Drüsen mit innerer Sekretion, nämlich dem Ovarium und der Schilddrüse, untersucht.

Schilddrüse und Ovarium wurden gewählt, weil diese beiden Organe einen wohlbekannten, gestaltenden Einfluß auf den Aufbau der Organismen besitzen. Die Literatur über den Einfluß der Schilddrüse auf die Entwicklung und Ausbildung des Körpers ist eine außerordentlich reiche, und dasselbe gilt von dem Einfluß der Ovarien auf die körperlichen sekundären Geschlechtsmerkmale. Was die von mir gewählte Beziehung anbetrifft, so ist sie eine vergleichsweise einfache: immerhin gehört zur Bildung der roten und der weißen Blutkörperchen eine ganze Summe von Vorgängen.

Was die Regeneration des Blutes nach Entfernung der Schilddrüse anbetrifft, so ist dieselbe mit Rücksicht auf den großen Einfluß, welchen die Schilddrüse auf die Permeabilität im ganzen hat, Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Ich erinnere vor allem an die Untersuchungen von *Eppinger*[1]), welcher zeigte, wie verzögert der Flüssigkeitsersatz und der Ersatz von Serumbestandteilen ist, wenn man einen größeren Aderlaß bei schilddrüsenlosen Hunden macht. Sehr zahlreich sind auch die Erfahrungen über veränderte Permeabilität, die ja stets in die Blutregeneration eingeht, in den Arbeiten des Berner physiologischen Instituts. Bei allen diesen Untersuchungen handelte es sich weniger um die Regeneration der roten Blutkörperchen. Was die weißen Blutkörperchen anbelangt, so liegen zahlreiche Beobachtungen über das Blutbild vor und nach Exstirpation von Drüsen mit innerer Sekretion, vor allem aber bei den Erkrankungen der Drüsen mit innerer Sekretion, sowohl denjenigen vom Typus der Unterwertigkeit wie auch denjenigen

[1]) *Eppinger*, Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems. Berlin, Julius Springer, 1917.

vom Typus der sogenannten Überwertigkeit. Die eigentliche Regeneration der weißen Blutkörperchen ist jedoch nicht Gegenstand der Untersuchung vom Boden der von mir angestellten Betrachtungen aus gewesen.

Zu meinen Untersuchungen bediente ich mich des Kaninchens. Es wurden möglichst gleich alte und gleich große Tiere gewählt und diese unter den gleichen Bedingungen gehalten. Eine besondere Diät brauchte nicht beobachtet zu werden. Da bekannt ist, daß sich das weiße Blutbild nach der Nahrungsaufnahme ändert, erfolgte die Blutentnahme möglichst zu gleichen Zeiten, besonders früh morgens im nüchternen Zustande. Zu jedem neuen Eingriff wurden frische Tiere benutzt.

Das Blut entnahm ich den Ohrvenen, nachdem ich vorher das Ohr abrasiert und sorgfältig mit Alkohol und Äther gereinigt und desinfiziert hatte. Die Eröffnung der Vene erfolgte durch schräges Einstechen mit einer sterilen Stecknadel. Dann wurde das hervorquillende Blut ohne Druck aufgefangen. Mit dieser einfachen Methode erzielte ich bessere Resultate als mit den üblichen Schnappern. Die Gefäßverletzung konnte so auf ein Minimum beschränkt bleiben. Die kleine Wunde schloß sich jeweilen sehr rasch und spurlos. Das war für fortgesetzte Untersuchungen sehr wünschenswert, um unter möglichst gleichen Bedingungen das Blutbild zu erhalten.

Das histologische Blutbild wurde an Ausstrichpräparaten auf Objektträgern untersucht. Ein Blutstropfen kam auf das gut gereinigte und entfettete Glas und wurde mit dem Rande eines Deckgläschens möglichst gleichmäßig verstrichen. Ich wählte, um die Resultate sicher zu gestalten, verschiedene Färbungsmethoden, so nach *Jenner-May*, nach *Romanowski-Giemsa*, nach *May-Giemsa* (Pappenheim). Besonders zog ich die letztere Methode heran. Die lufttrockenen Präparate wurden während 3 Minuten in 96proz. Methylalkohol fixiert.

Die Färbung nach *May-Giemsa* geschah durch Aufschichten von konzentrierter Jennerfarbe während 5 Minuten; dazu wurde der Objektträger in eine gedeckte Petrischale gebracht; während weiterer 10 Minuten wurde die Jennerfarbe mit der gleichen Menge destillierten Wassers verdünnt. Ohne Wasserausspülung kamen dann die Präparate während 30 Minuten mit der verdünnten Giemsalösung in Berührung, die im Verhältnis von einem Tropfen Farbe zu 1 ccm destillierten Wassers jedesmal frisch bereitet wurde. Nachher wurden sie in Brunnenwasser kurz abgespült, dann getrocknet und vermittelst eines Immersionssystems auf dem verschiebbaren Objekttisch eines Leitzmikroskops untersucht.

Die Zählung erfolgte jedesmal so lange, bis mindestens 300 Leucocyten differenziert waren. Diese Zahl erwies sich als genügend, um sichere Resultate im relativen Blutbild zu erhalten, was durch gelegentliche Zählungen von größeren Reihen bestätigt wurde.

Die Bestimmungen der absoluten Zahlen der weißen Blutkörperchen wurden mit dem Apparat von *Hayem-Sahli* ausgeführt. Als Verdünnungs- und Färbungsflüssigkeit wurde die *Türk*sche Lösung (1 proz. Essigsäurelösung + Gentianaviolett 0,05 : 300) benutzt. Die Hämoglobinbestimmung wurde mit dem Hämometer von *Sahli* genau nach den Vorschriften seines Lehrbuches ausgeführt.

Meine Untersuchung begann mit Voruntersuchungen an den gebrauchten Tieren, um die etwaigen physiologischen Schwankungen kennenzulernen. Während der ganzen Dauer der Versuche wurden selbstverständlich Kontrolltiere unter den gleichen Bedingungen beobachtet.

Die Operationen an mehreren Tieren geschahen in Morphiumnarkose (2 cg Morphium muriaticum subkutan); sie wurden unter streng aseptischen Kautelen ausgeführt. Besonders wurde das Kaninchenfell desinfiziert, um die geringste Infektion auszuschließen. Der Blutentzug geschah so, daß die Haare des Halses gut abrasiert wurden und die Haut mit Alkohol gehörig desinfiziert wurde. Die Karotis wurde dann in der üblichen Weise freigelegt und möglichst hoch oben eine sterile Kanüle in dieselbe eingeführt, um die jeweilig gewollte Blutmenge zu entziehen. Die Thyreoidektomie wurde in der im Berner physiologischen Institut üblichen Methode mit sorgfältiger Blutstillung und Schonung der beiden äußeren Glandulae parathyreoideae sowie der Nervi recurrentes ausgeführt. Die Ovariotomie geschah gleichfalls in der bekannten Weise.

Der allgemeine Zustand der operierten Tiere wurde von mir stets genau verfolgt. Die operierten Tiere waren immer schon 3 bis 6 Stunden nach der Narkose erwacht, bewegten sich munter und konnten gut fressen. Von da an verhielten sie sich äußerlich wie nicht operierte Tiere. Während der ganzen Zeit meiner Untersuchungen waren alle von mir benutzten Tiere in gesundem Zustande. Es war mit Rücksicht auf die Deutung des weißen Blutbildes von größter Wichtigkeit, genau jederzeit den Gesundheitszustand der Tiere zu überwachen. Der Plan meiner Untersuchungen bestand darin, bei normalen, bei ovariumlosen und bei schilddrüsenlosen Tieren einen Blutentzug zu machen und nach demselben fortlaufend die Regeneration des Blutes in bezug auf seine körperlichen Elemente durch Hämoglobinbestimmung, Zählung der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen und Feststellung der relativen Zahl der einzelnen weißen Blutkörperchenarten, dem sogenannten relativen Blutbilde, zu verfolgen. Auch das sogenannte *Arneth*sche Blutbild habe ich in den Bereich meiner Untersuchungen gezogen, doch tritt dasselbe in der Bewertung der Geschehnisse zurück. Bei denjenigen Tieren, bei denen die Kastration oder die Thyreoidektomie

erfolgte, wurde vor dem Blutentzug der Einfluß dieser Operation auf die genannten Faktoren geprüft und der Blutentzug erst gemacht, wenn annähernd stabile bekannte Verhältnisse vorlagen.

Die Ergebnisse meiner Versuche habe ich in Form von Tabellen und Kurven niedergelegt, welche alles Wesentliche enthalten und veranschaulichen, weshalb es nur einer kurzen Besprechung der Versuchsresultate bedarf. Ich beginne mit der Erörterung der Gruppe 1 meiner Versuche, bestehend aus einem Kontrolltier, einem Tiere, bei welchem ich die Ovariotomie gemacht habe, und einem Tiere, bei welchem ich die Schilddrüse entfernte. Ich hebe nochmals hervor, daß es mir bei meinen Versuchen nicht allein darauf ankam, die Regeneration nach Ovariotomie und nach Thyreoidektomie zu studieren, Dinge, über welche teilweise schon Material in der Literatur vorliegt, sondern es lag mir vor allem an einem Vergleich zwischen dem Einfluß der beiden Drüsen mit innerer Sekretion auf das vorliegende Problem.

Was das Normaltier anbelangt, so habe ich bei demselben zweimal einen Blutentzug gemacht, beidemal annähernd die gleiche Menge. Ich wählte einen mittelgroßen Blutentzug, weil ich glaubte, daß gerade bei diesem die Unterschiede deutlicher zutage treten würden. Beim normalen Tiere waren in beiden Fällen in 7 bis 8 Tagen die früheren Werte für Hämoglobin erreicht, demnach eine Regeneration der roten Blutkörperchen erfolgt. Beim ovarienlosen Tiere hatte die Kastration keinen wesentlichen Einfluß auf den Hämoglobingehalt des Blutes. Nach dem ersten Blutentzug dauerte es aber 12 Tage, bis die Regeneration der roten Blutkörperchen eingetreten war und abermals 12 Tage nach dem zweiten Blutentzug. Folglich regenerierte das ovariumlose Tier langsamer als das normale Tier. Beim schilddrüsenlosen Tiere war erst nach 14 bis 15 Tagen nach dem ersten Blutentzug die Regeneration der roten Blutkörperchen zur Norm eingetreten, und nach dem zweiten Blutentzug dauerte es sogar 18 Tage, bis die Regeneration zur Norm eintrat. Die hier geschilderten Tatsachen habe ich in Abb. 1, 3 und 5 graphisch dargestellt. Noch deutlicher aber kommt der Sachverhalt in der kurvenmäßigen Darstellung in Abb. 7 zutage. Hier habe ich nebeneinander die Hämoglobinregeneration nach dem ersten und nach dem zweiten Blutentzug vom Normaltiere, vom kastrierten Tiere und vom schilddrüsenlosen Tiere in Kurvenform wiedergegeben, und man erkennt sehr deutlich, wie am steilsten die Kurve beim Normaltiere verläuft, wesentlich flacher beim kastrierten Tiere und noch viel flacher beim schilddrüsenlosen Tiere, so daß der Endordinatenwert zeitlich sehr auseinanderfällt.

Was nun das Verhalten des relativen weißen Blutbildes betrifft, so zeigt sich beim Normaltiere ein gegensätzliches Verhalten der Lymphocyten und der polymorphkernigen Leucocyten nach dem Blut-

entzug. Nach jedem Blutentzug kommt es zu einem raschen und tiefen Sturz der Lymphocyten, während bei den polymorphkernigen Leucocyten ein merkliches, wenn auch nicht ganz so großes Ansteigen feststellbar ist. Ganz anders verlaufen die Dinge beim kastrierten Tiere. Infolge der Kastration kommt es zu einer allmählichen Ausbildung der Vermehrung der Lymphocyten und zu einer ebenso verlaufenden Verminderung der polymorphkernigen Leucocyten. In diese Phase fällt der erste Blutentzug, und es tritt eine ganz allmähliche Steigerung der Zahl der polymorphkernigen Leucocyten ein, die aber schließlich nur den normalen Wert erreicht, so daß man daraus nicht ableiten kann, ob es sich nicht um einen spontanen Vorgang handle. Die Lymphocyten sinken ganz allmählich und erreichen schließlich einen etwas unternormalen Wert. Nach dem zweiten Blutentzug tritt keine wesentliche Veränderung in den polymorphkernigen Leucocyten ein, sie halten sich auf annähernd der gleichen Höhe. Bei den Lymphocyten kommt es zu einem ganz kurz dauernden Anstieg mit Wiedersenkung und dann einem neuen allmählichen Anstieg bis etwa auf den ursprünglichen Normalwert.

Beim schilddrüsenlosen Tiere hat die Entfernung der Schilddrüse zunächst eine ganz wesentliche Erhöhung der Zahl der Lymphocyten und eine ganz entsprechende Erniedrigung der Zahl der polymorphkernigen Leucocyten zur Folge. Nach dem ersten Blutentzug kommt es zunächst zu einem Falle der Lymphocyten bis zum Normalwert und dann zu einem ganz allmählichen Absinken der Zahl derselben. Die polymorphkernigen Leucocyten nehmen ganz allmählich an Zahl zu, aber ganz im Anfange tritt erst eine kleine Verminderung ein. Nach dem zweiten Blutentzug bleiben die polymorphkernigen Leucocyten auf der einmal erreichten Höhe stehen, während die Lymphocyten eine ganz allmählich verlaufende, nicht sehr große Steigerung aufweisen. Praktisch gesprochen, bleibt nach dem zweiten Blutentzug alles beim alten, so daß man den Eindruck gewinnt, daß der Blutentzug als solcher überhaupt keinen Einfluß hatte, sondern daß es sich um Schwankungen im Blutbilde infolge des Fehlens der Schilddrüse handelt. Die hier geschilderten Tatsachen habe ich in den Abb. 2, 4 und 6 dargestellt.

In der zweiten Gruppe meiner Versuche habe ich nochmals dieselben Dinge an einem Kontrolltiere, einem ovariumlosen Tiere und einem schilddrüsenlosen Tiere wiederholt. Die Ergebnisse, die in dieser Gruppe erhalten wurden, habe ich wiederum in den beiliegenden Tabellen und Kurven niedergelegt. In dieser Gruppe habe ich mich mit einem einzigen Blutentzug begnügt, und ich glaubte dies tun zu dürfen, da die Ergebnisse dieser Reihe genau die gleichen waren wie in der vorhergehenden. In Abb. 14 ist kurvenmäßig die Hämoglobin-

regeneration nach Blutentzug beim Normaltiere, beim kastrierten Tiere und beim schilddrüsenlosen Tiere dargestellt und man sieht, wie genau in der Reihenfolge dieser Aufzählung die Zeitdauer der Regeneration sich verlängert. Demnach haben Ovarien und Schilddrüse offenbar qualitativ den gleichen Einfluß auf die Blutregeneration, nur ist der Einfluß der Schilddrüse quantitativ sehr viel größer als derjenige des Ovariums. Will man den Versuch machen, die hier vorgefundenen Tatsachen zu deuten, so würde man wohl am ehesten, da es sich um erwachsene Tiere handelt, der Erklärung zuneigen, daß mit dem Fortfall des Ovariums und mit dem Fortfall der Schilddrüse eine quantitativ verschiedene Leistungsverminderung des Knochenmarks eingetreten sei, und diese Erklärung könnte sich auch darauf berufen, daß sie im Einklang — wenigstens was die Schilddrüse betrifft — mit mannigfachen anderen Erfahrungen steht.

Was das Verhalten der einzelnen Arten weißer Blutkörperchen betrifft, so zeigt sich beim Normaltiere genau wie in der vorhergehenden Gruppe infolge des Blutentzugs eine Verminderung der Lymphocyten und eine Vermehrung der polymorphkernigen Leucocyten, die sich dann wieder ausgleichen. Die Kastration hat den gleichen Einfluß wie früher auf die Lymphocyten, die sich allmählich vermehren und auf die polymorphkernigen Leucocyten, die sich allmählich vermindern. Nach dem Blutentzug tritt eine allmähliche Senkung der Lymphocytenzahl und eine ganz allmähliche Steigerung der polymorphkernigen Leucocyten ein. Auch hier ist im wesentlichen Übereinstimmung mit dem früheren Resultat.

Die Entfernung der Schilddrüse bewirkt gleichfalls wie früher eine starke Erhöhung der Lymphocytenzahl und eine starke Verminderung der polymorphkernigen Leucocyten. Nach dem Blutentzug kehrt sich der Verlauf beider Kurven in sehr allmählicher Weise um, wiederum vollständig in Übereinstimmung mit der früheren Versuchsreihe.

Betrachten wir insgesamt die Veränderung im relativen Blutbilde, so ist dasselbe sehr ausgesprochen beim Normaltiere. Die Deutung des Verhaltens schließt sich im wesentlichen derjenigen an, welche ich für die Hämoglobinregeneration gegeben habe, denn die starke Erhöhung der polymorphkernigen Leucocyten läßt sich recht gut deuten als eine Reizwirkung auf ein leistungsfähiges Knochenmark. In dem Verhalten des relativen weißen Blutbildes beim ovariumlosen und beim schilddrüsenlosen Tiere läßt sich erstens feststellen, daß sowohl die Kastrierung wie auch die Entfernung der Schilddrüse auf die beiden speziell studierten weißen Blutkörperchenarten in annähernd gleicher Weise wirkt, nur mit dem Unterschied, daß alles bei der Schilddrüsenexstirpation sehr viel ausgesprochener ist. Was die Folgen des Blut-

entzugs anlangt, so läßt sich im günstigsten Falle ein nur sehr abgeschwächtes Bild der Vorkommnisse wiedererkennen, wie sie beim Normaltiere beobachtet werden. Die Abschwächung ist am größten beim schilddrüsenlosen Tiere.

Meine Untersuchungen haben unzweifelhaft einen großen Einfluß der Entfernung des Ovariums und der Schilddrüse auf die Regeneration sowohl der roten wie auch gewisser Arten der weißen Blutkörperchen gezeitigt. Umgekehrt führen sie zu der Einsicht, daß das Ovarium und die Schilddrüse auf die an dem Blutgewebe sich abspielenden Wachstumsvorgänge einen maßgebenden Einfluß haben. Am größten ist der Einfluß der Schilddrüse, etwas kleiner derjenige des Ovariums.

---

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Untersuchungen die nachfolgenden:

1. Nach mittelgroßem Blutentzug regeneriert ein normales Tier am raschesten sein Hämoglobin, ein ovariumloses langsamer und ein schilddrüsenloses am langsamsten.

2. Beim normalen Tiere hat der Blutentzug zunächst eine wesentliche Erhöhung der polymorphkernigen Leucocyten zur Folge, während die relative Zahl der Lymphocyten sich vermindert. Dieses Verhalten ist, wenn überhaupt, beim ovariumlosen Tiere viel weniger ausgesprochen und fast gänzlich verwischt beim schilddrüsenlosen Tiere.

3. Die hier gefundenen Tatsachen sind Beweise für den Anteil von Ovarium und Schilddrüse an den Wachstumsvorgängen des Blutgewebes beim erwachsenen Tiere und insbesondere auch für einen gleichartigen, wenn auch quantitativ verschiedenen Einfluß auf das Knochenmark.

*Tabelle I.*

Kontrolltier 1 (schwarzfleck.), ♀. Gewicht 3750 g.

| Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen | Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|---|
| 4. X. | 69 | 8 164 | 10. XI. | 69 | 8 055 |
| 6. X. | 68 | 8 850 | 12. XI. | 68 | — |
| 12. X. | 68 | 8 662 | 13. XI. | 2. Blutentzug 46 ccm (Körpergewicht 3800 g) | |
| 19. X. | 90 | 8 920 | 14. XI. | 58 84 Proz. | 11 814 |
| 24. X. | 1. Blutentzug 45 ccm (Körpergewicht 3750 g) | | 16. XI. | 63 92 „ | 10 820 |
| 25. X. | 57 83 Proz. | — | 19. XI. | 65 94 „ | 9 537 |
| 27. X. | 58 84 „ | 12 356 | 22. XI. | 67 98 „ | 9 021 |
| 29. X. | 62 90 „ | 9 021 | 26. XI. | 70 | 8 285 |
| 30. X. | — — „ | 8 400 | 28. XI. | 69 | — |
| 31. X. | 66 96 „ | — | 29. XI. | — | 8 164 |
| 2. XI. | 69 | 8 159 | 1. XII. | 70 | — |
| 5. XI. | 72 | 8 015 | 3. XII. | 71 | 8 850 |
| 7. XI. | 70 | 8 224 | 5. XII. | 69 | — |
| 8. XI. | 69 | — | | | |

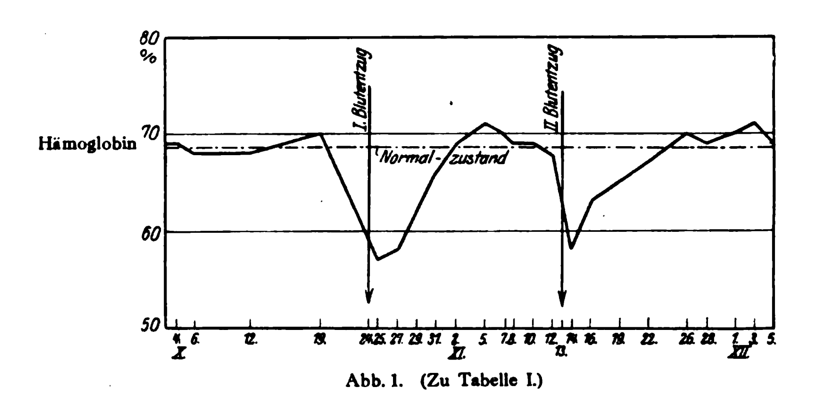



Abb. 1. (Zu Tabelle I.)

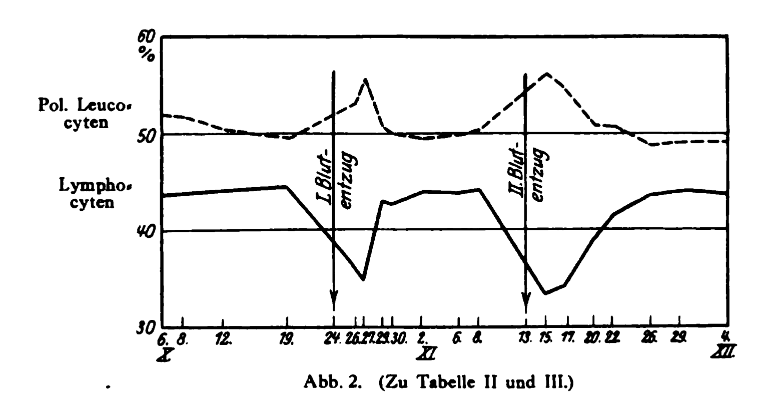



Abb. 2. (Zu Tabelle II und III.)

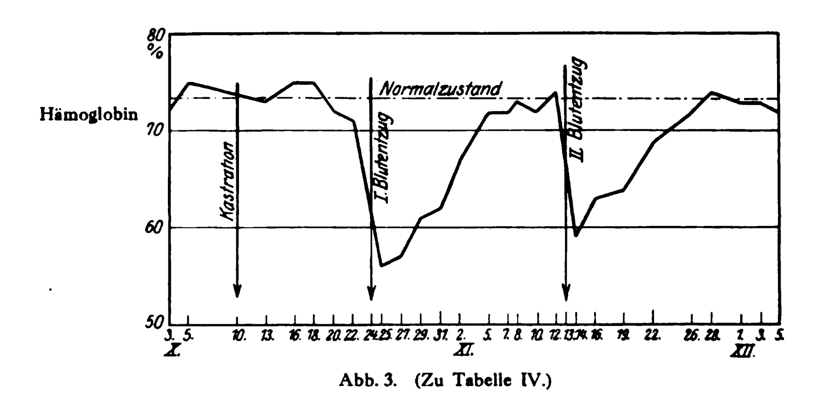



Abb. 3. (Zu Tabelle IV.)

*Tabelle II.*

Kontrolltier 1 (schwarzfleck.), ♀. Gewicht 3750 g.

| Datum 1923 | Lymphocyten klein | Lymphocyten groß | Polymorphkernige Leucocyten neutrophil | eosinophil | basophil | Übergangsformen | Große mononucleäre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6. X. | 36,2 | 7,3 | 47,4 | 2,6 | 1,7 | 2,8 | 2,0 |
| 8. X. | 35,5 | 8,1 | 48,2 | 0,5 | 2,7 | 2,0 | 3,0 |
| 12. X. | 38,4 | 5,6 | 48,8 | 0,8 | 0,8 | 3,1 | 2,5 |
| 19. X. | 39,3 | 5,1 | 47,2 | 1,1 | 1,1 | 4,0 | 2,2 |
| 24. X. | 1. Blutentzug 45 ccm (Körpergewicht 3750 g) | | | | | | |
| 26. X. | 30,0 | 6,2 | 50,7 | 1,0 | 1,2 | 5,8 | 5,1 |
| 27. X. | 24,1 | 10,4 | 52,2 | 1,8 | 1,2 | 6,3 | 4,0 |
| 29. X. | 32,4 | 10,5 | 47,3 | 1,0 | 2,2 | 3,5 | 3,1 |
| 30. X. | 33,6 | 8,6 | 46,4 | 2,4 | 1,0 | 4,6 | 4,0 |
| 2. XI. | 36,3 | 7,5 | 46,0 | 1,4 | 2,0 | 4,0 | 2,8 |
| 6. XI. | 35,8 | 7,8 | 45,9 | 2,7 | 1,2 | 4,2 | 2,4 |
| 8. XI. | 34,3 | 9,7 | 46,4 | 0,8 | 3,1 | 4,5 | 1,2 |
| 13. XI. | 2. Blutentzug 46 ccm (Körpergewicht 3800 g) | | | | | | |
| 15. XI. | 25,2 | 8,0 | 53,8 | 1,5 | 0,9 | 5,2 | 5,4 |
| 17. XI. | 24,0 | 10,1 | 52,7 | 1,2 | 1,6 | 6,8 | 3,6 |
| 20. XI. | 29,3 | 9,7 | 48,2 | 1,0 | 1,5 | 5,8 | 4,5 |
| 22. XI. | 32,6 | 8,8 | 48,6 | 1,3 | 0,8 | 4,3 | 3,6 |
| 26. XI. | 33,9 | 9,6 | 47,0 | 0,6 | 1,2 | 4,1 | 3,6 |
| 29. XI. | 37,2 | 5,8 | 47,2 | 0,9 | 1,0 | 3,8 | 3,1 |
| 4. XII. | 37,5 | 6,1 | 46,8 | 1,7 | 0,5 | 3,6 | 3,8 |

*Tabelle III.*

Kontrolltier 1 (schwarzfleck.), ♀. Gewicht 3750 g.

| Datum 1923 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6. X. | — | 4 | 16 | 40 | 28 | 12 | |
| 8. X. | — | 3 | 14 | 41 | 25 | 17 | |
| 12. X. | — | 4 | 18 | 43 | 25 | 10 | |
| 19. X. | — | 3 | 15 | 40 | 30 | 12 | |
| 24. X. | 1. Blutentzug 45 ccm (Körpergewicht 3750 g) | | | | | | |
| 26. X. | 1 | 5 | 18 | 35 | 31 | 10 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch |
| 27. X. | 2 | 3 | 13 | 41 | 30 | 11 | |
| 29. X. | 1 | 2 | 25 | 32 | 28 | 12 | |
| 30. X. | — | 2 | 13 | 30 | 38 | 17 | |
| 2. XI. | — | 3 | 15 | 34 | 35 | 13 | |
| 6. XI. | — | 4 | 13 | 27 | 37 | 19 | |
| 8. XI. | — | 2 | 15 | 30 | 26 | 17 | |
| 13. XI. | 2. Blutentzug 46 ccm (Körpergewicht 3800 g) | | | | | | Ein kernhaltiges rotes Blutkörperchen. |
| 15. XI. | 3 | 8 | 24 | 33 | 20 | 12 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch |
| 17. XI. | 3 | 7 | 22 | 38 | 21 | 8 | |
| 20. XI. | 2 | 6 | 20 | 30 | 32 | 10 | |
| 22. XI. | — | 4 | 15 | 37 | 28 | 16 | |
| 26. XI. | — | 3 | 13 | 32 | 35 | 17 | |
| 29. XI. | — | 3 | 15 | 40 | 27 | 15 | |
| 4. XII. | — | 4 | 18 | 37 | 25 | 16 | |

*Tabelle IV.*

Versuchstier 1 (schwarz), ♀. Gewicht 1700 g.

| Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen | Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|---|
| 3. X. | 72 | 9 888 | 7. XI. | 72 99 Proz. | 9 082 |
| 5. X. | 75 | 10 235 | 8. XI. | 74 — „ | — |
| 10. X. | Kastration | | 10. XI. | 72 99 „ | 9 835 |
| 13. X. | 73 | 10 820 | 12. XI. | 73 — „ | — |
| 16. X. | 75 | 10 326 | 13. XI. | 2. Blutentzug 22 ccm (Körpergewicht 1850 g) | |
| 18. X. | 75 | 10 907 | 14. XI. | 59 80 Proz. | 10 846 |
| 20. X. | 72 | 10 020 | 16. XI. | 63 86 „ | 10 356 |
| 22. X. | 71 | 9 902 | 19. XI. | 64 87 „ | 9 346 |
| 24. X. | 1. Blutentzug 20 ccm (Körpergewicht 1700 g) | | 22. XI. | 69 94 „ | 9 537 |
| 25. X. | 56 77 Proz. | — | 26. XI. | 72 98 „ | 9 598 |
| 27. X. | 57 78 „ | 10 285 | 28. XI. | 74 | — |
| 29. X. | 61 84 „ | 11 334 | 29. XI. | — | 9 527 |
| 30. X. | — — „ | 9 721 | 1. XII. | 73 | — |
| 31. X. | 62 85 „ | — | 3. XII. | 73 | 9 132 |
| 2. XI. | 67 92 „ | 9 537 | 5. XII. | 72 | — |
| 5. XI. | 72 99 „ | 8 934 | | | |

*Tabelle V.*

Versuchstier 1 (schwarz), ♀. Gewicht 1700 g.

| Datum 1923 | Lymphocyten | | Polymorphkernige Leucocyten | | | Übergangsformen | Große mononucleäre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | klein | groß | neutrophil | eosinophil | basophil | | |
| 3. X. | 41,4 | 4,7 | 44,2 | 1,4 | 1,5 | 4,1 | 2,7 |
| 5. X. | 40,2 | 3,6 | 45,3 | 1,2 | 2,1 | 5,1 | 2,5 |
| 10. X. | Kastration | | | | | | |
| 15. X. | 40,4 | 4,4 | 45,0 | 1,5 | 1,9 | 4,2 | 2,6 |
| 16. X. | 38,5 | 4,2 | 46,0 | 1,7 | 0,5 | 6,4 | 2,7 |
| 18. X. | 35,2 | 7,1 | 42,3 | 1,4 | 0,9 | 9,4 | 3,7 |
| 22. X. | 37,2 | 12,3 | 42,0 | 1,8 | 0,7 | 4,5 | 2,5 |
| 23. X. | 33,1 | 14,3 | 41,2 | 1,1 | 0,7 | 8,1 | 1,5 |
| 24. X. | 1. Blutentzug 20 ccm (Körpergewicht 1700 g) | | | | | | |
| 26. X. | 34,4 | 12,6 | 41,2 | 1,2 | 3,1 | 4,4 | 3,1 |
| 27. X. | 32,5 | 14,8 | 40,0 | 2,1 | 3,0 | 4,2 | 3,4 |
| 29. X. | 31,4 | 16,4 | 41,2 | 1,4 | 2,8 | 3,0 | 3,8 |
| 30. X. | 35,6 | 10,4 | 42,1 | 1,8 | 2,6 | 3,8 | 3,7 |
| 3. XI. | 34,8 | 10,6 | 43,0 | 2,2 | 2,0 | 4,1 | 3,3 |
| 6. XI. | 35,0 | 9,1 | 44,2 | 1,1 | 2,5 | 5,2 | 2,9 |
| 8. XI. | 36,2 | 7,7 | 44,0 | 1,0 | 2,1 | 4,3 | 4,7 |
| 13. XI. | 2. Blutentzug 22 ccm (Körpergewicht 1850 g) | | | | | | |
| 15. XI. | 30,0 | 11,2 | 45,4 | 2,2 | 1,8 | 5,1 | 4,3 |
| 17. XI. | 32,6 | 10,0 | 45,8 | 1,6 | 0,8 | 6,0 | 2,2 |
| 20. XI. | 32,2 | 8,9 | 46,2 | 0,7 | 2,1 | 6,3 | 3,6 |
| 22. XI. | 33,0 | 9,0 | 45,8 | 0,8 | 2,1 | 5,6 | 4,7 |
| 26. XI. | 34,6 | 8,2 | 44,6 | 1,2 | 1,5 | 6,8 | 3,1 |
| 29. XI. | 38,3 | 5,4 | 45,0 | 1,1 | 1,9 | 5,5 | 2,8 |
| 4. XII. | 40,2 | 4,5 | 44,7 | 0,8 | 2,1 | 5,2 | 2,5 |

*Tabelle VI.*

Versuchstier 1 (schwarz), ♀. Gewicht 1700 g.

| Datum 1923 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3. X. | — | 5 | 16 | 43 | 27 | 9 | |
| 5. X. | — | 2 | 18 | 45 | 25 | 10 | |
| 10. X. | Kastration | | | | | | |
| 15. X. | — | 2 | 24 | 46 | 20 | 8 | |
| 16. X. | — | 3 | 46 | 30 | 16 | 5 | |
| 18. X. | — | 5 | 23 | 32 | 22 | 8 | |
| 22. X. | — | 4 | 29 | 34 | 21 | 12 | |
| 23. X. | — | 6 | 22 | 36 | 28 | 8 | |
| 24. X. | 1. Blutentzug 22 ccm (Körpergewicht 1850 g) | | | | | | |
| 26. X. | — | 7 | 28 | 31 | 30 | 4 | |
| 27. X. | — | 6 | 31 | 35 | 21 | 7 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch |
| 29. X. | 2 | 4 | 29 | 40 | 20 | 5 | |
| 30. X. | — | 8 | 30 | 30 | 30 | 2 | |
| 3. XI. | — | 4 | 17 | 40 | 26 | 13 | |
| 6. XI. | — | 3 | 10 | 36 | 37 | 14 | |
| 8. XI. | — | 4 | 11 | 31 | 39 | 15 | |
| 13. XI. | 2. Blutentzug 22 ccm (Körpergewicht 1850 g) | | | | | | |
| 15. XI. | 1 | 6 | 28 | 32 | 23 | 10 | Wieder viele Erythrocyten polychromat. und anisocytotisch |
| 17. XI. | 2 | 6 | 25 | 30 | 25 | 12 | |
| 20. XI. | 2 | 8 | 26 | 24 | 27 | 13 | |
| 22. XI. | — | 6 | 22 | 32 | 26 | 14 | |
| 26. XI. | — | 5 | 20 | 34 | 30 | 11 | |
| 29. XI. | — | 5 | 15 | 40 | 28 | 12 | |
| 4. XII. | — | 4 | 10 | 35 | 36 | 15 | |

*Tabelle VII.*

Versuchstier 2 (grau), ♀. Gewicht 2750 g.

| Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen | Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|---|
| 8. X. | 75 | 8 663 | 8. XI. | 70 96 Proz. | — |
| 9. X. | 72 | 8 450 | 10. XI. | 71 97 „ | 8 035 |
| 10. X. | Entfernung der Schilddrüse | | 12. XI. | 73 — „ | — |
| 13. X. | 73 | 8 905 | 13. XI. | 2. Blutentzug 35 ccm (Körpergewicht 2860 g) | |
| 17. X. | 73 | 9 080 | 14. XI. | 59 81 Proz. | 9 346 |
| 20. X. | 72 | 9 361 | 16. XI. | 60 82 „ | 9 598 |
| 24. X. | 1. Blutentzug 33 ccm (Körpergewicht 2750 g) | | 19. XI. | 62 85 „ | 8 841 |
| 25. X. | 56 77 Proz. | — | 22. XI. | 64 88 „ | 9 361 |
| 27. X. | 57 78 „ | 9 177 | 26. XI. | 67 92 „ | 8 335 |
| 29. X. | 61 84 „ | 9 323 | 28. XI. | 68 93 „ | — |
| 30. X. | — — „ | 8 612 | 29. XI. | — — „ | 9 450 |
| 31. X. | 63 86 „ | — | 1. XII. | 72 99 „ | — |
| 2. XI. | 64 88 „ | 8 722 | 3. XII. | 73 | 8 763 |
| 5. XI. | 69 94 „ | 7 890 | 5. XII. | 72 | — |
| 7. XI. | 70 96 „ | 7 978 | | | |

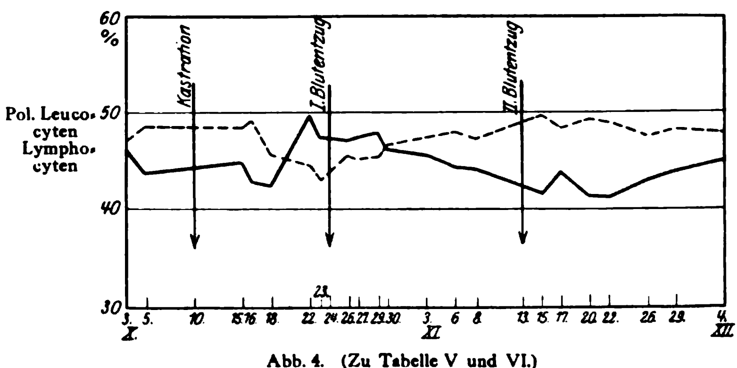



Abb. 4. (Zu Tabelle V und VI.)

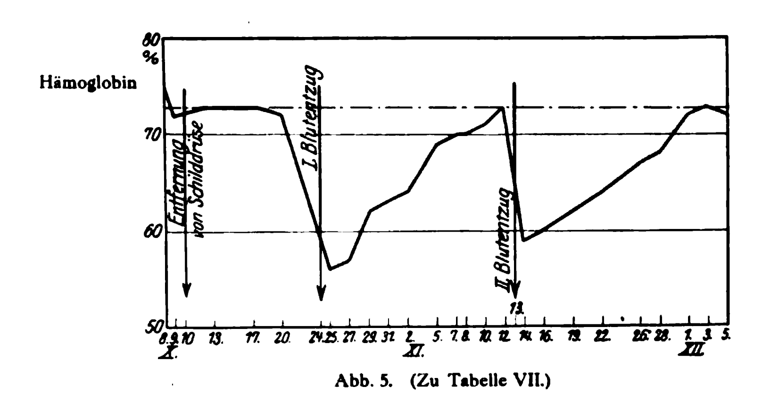



Abb. 5. (Zu Tabelle VII.)

60 %
Pol. Leucocyten 50
Lymphocyten 40
30
Entfernung von Schilddrüse
I. Blutentzug
II. Blutentzug
X.
XI
XII

Abb. 6. (Zu Tabelle VIII und IX.)

*Tabelle VIII.*

Versuchstier 2 (grau), ♀. Gewicht 2750 g.

| Datum 1923 | Lymphocyten klein | Lymphocyten groß | Polymorphkernige Leucocyten neutrophil | Polymorphkernige Leucocyten eosinophil | Polymorphkernige Leucocyten basophil | Übergangsformen | Große mononucleäre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8. X. | 36,9 | 4,6 | 45,5 | 2,6 | 0,6 | 6,6 | 3,2 |
| 9. X. | 38,2 | 4,0 | 46,1 | 2,0 | 1,0 | 5,0 | 3,7 |
| 10. X. | Entfernung der Schilddrüse | | | | | | |
| 15. X. | 39,3 | 5,7 | 45,0 | 0,8 | 0,6 | 5,2 | 3,4 |
| 17. X. | 46,0 | 6,0 | 36,0 | 2,1 | 0,4 | 5,3 | 4,2 |
| 20. X. | 46,2 | 4,9 | 38,1 | 1,8 | 0,8 | 5,2 | 2,3 |
| 24. X. | 1. Blutentzug 33 ccm (Körpergewicht 2750 g) | | | | | | |
| 26. X. | 34,0 | 16,5 | 44,3 | 0,7 | 0,4 | 2,1 | 2,0 |
| 27. X. | 30,2 | 14,0 | 44,0 | 1,6 | 1,9 | 3,8 | 4,5 |
| 29. X. | 38,4 | 6,6 | 43,2 | 1,2 | 1,1 | 4,4 | 5,1 |
| 1. XI. | 36,2 | 7,5 | 44,0 | 2,0 | 1,6 | 5,1 | 3,6 |
| 5. XI. | 35,3 | 8,8 | 45,2 | 2,0 | 1,4 | 4,3 | 3,1 |
| 8. XI. | 32,2 | 10,4 | 45,0 | 2,1 | 2,0 | 5,1 | 3,2 |
| 13. XI. | 2. Blutentzug 35 ccm (Körpergewicht 2860 g) | | | | | | |
| 15. XI. | 30,0 | 10,2 | 46,1 | 2,0 | 1,1 | 4,3 | 6,3 |
| 17. XI. | 31,2 | 10,2 | 47,0 | 1,3 | 1,0 | 5,2 | 4,1 |
| 20. XI. | 33,6 | 8,8 | 46,7 | 1,2 | 1,3 | 4,0 | 4,4 |
| 22. XI. | 34,0 | 9,1 | 46,0 | 1,2 | 2,2 | 3,9 | 3,6 |
| 26. XI. | 36,6 | 7,8 | 45,0 | 2,2 | 0,7 | 3,3 | 4,4 |
| 29. XI. | 38,0 | 6,7 | 45,7 | 1,3 | 1,1 | 4,1 | 3,1 |
| 4. XII. | 39,8 | 5,2 | 45,7 | 1,2 | 1,1 | 3,4 | 3,6 |

*Tabelle IX.*

Versuchstier 2 (grau), ♀. Gewicht 2750 g.

| Datum 1923 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8. X. | — | 5 | 15 | 37 | 24 | 19 | |
| 9. X. | — | 3 | 14 | 47 | 21 | 15 | |
| 10. X. | Entfernung der Schilddrüse | | | | | | |
| 15. X. | — | 1 | 11 | 48 | 27 | 13 | |
| 17. X. | — | 1 | 11 | 36 | 28 | 24 | |
| 20. X. | — | 1 | 14 | 30 | 34 | 21 | |
| 24. X. | 1. Blutentzug 33 ccm (Körpergewicht 2750 g) | | | | | | |
| 26. X. | — | 2 | 8 | 31 | 39 | 20 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch (26. X.–29. X.) |
| 27. X. | — | 8 | 19 | 42 | 21 | 10 | |
| 29. X. | — | 6 | 17 | 38 | 25 | 14 | |
| 1. XI. | 1 | 3 | 11 | 30 | 38 | 17 | |
| 5. XI. | — | 6 | 18 | 24 | 37 | 15 | |
| 8. XI. | — | 5 | 16 | 36 | 31 | 12 | |
| 13. XI. | 2. Blutentzug 34 ccm (Körpergewicht 2860 g) | | | | | | |
| 15. XI. | — | 8 | 17 | 30 | 32 | 13 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch (15. XI.–20. XI.) |
| 17. XI. | 1 | 5 | 19 | 30 | 33 | 12 | |
| 20. XI. | — | 4 | 18 | 28 | 39 | 11 | |
| 22. XI. | — | 2 | 17 | 36 | 30 | 15 | |
| 26. XI. | — | 7 | 16 | 32 | 28 | 17 | |
| 29. XI. | — | 4 | 12 | 39 | 28 | 17 | |
| 4. XII. | — | 6 | 15 | 31 | 32 | 16 | |



*Tabelle X.*

Kontrolltier 2 (grau), ♀. Gewicht 1960 g.

| Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen | Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|---|
| 9. XI. | 76 | 8 336 | 7. XII. | 66 87 Proz. | 12 121 |
| 16. XI. | 75 | 8 275 | 10. XII. | 72 95 „ | 9 346 |
| 23. XI. | 75 | 8 462 | 12. XII. | 74 98 „ | 7 830 |
| 27. XI. | 76 | 8 841 | 14. XII. | 78 | 8 487 |
| 30. XI. | 76 | 8 563 | 17. XII. | 76 | — |
| 3. XII. | 76 | 8 825 | 19. XII. | 76 | 8 825 |
| 4. XII. | Blutentzug 28 ccm (Körpergewicht 1980 g) | | 21. XII. | 77 | 8 134 |
| 5. XII. | 62 82 Proz. | — | 22. XII. | 76 | — |

*Tabelle XI.*

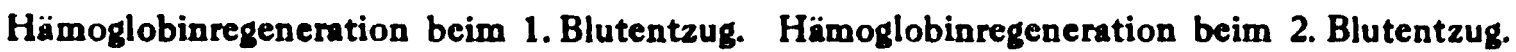
Kontrolltier 2 (grau), ♀. Gewicht 1960 g.

| Datum 1923 | Lymphocyten | | Polymorphkernige Leucocyten | | | Übergangsformen | Große mononucleäre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | klein | groß | neutrophil | eosinophil | basophil | | |
| 9. XI. | 31,1 | 8,5 | 50,3 | 0,3 | 1,5 | 4,9 | 3,4 |
| 17. XI. | 31,2 | 9,1 | 50,0 | 0,8 | 1,8 | 4,2 | 2,9 |
| 23. XI. | 30,0 | 10,2 | 51,0 | 0,6 | 1,2 | 4,6 | 2,4 |
| 27. XI. | 30,8 | 8,6 | 51,3 | — | 1,3 | 5,0 | 3,0 |
| 30. XI. | 32,1 | 8,2 | 49,4 | 0,7 | 2,0 | 4,2 | 3,4 |
| 4. XII. | Blutentzug 28 ccm (Körpergewicht 1980 g) | | | | | | |
| 6. XII. | 23,0 | 9,0 | 54,5 | 0,9 | 1,8 | 6,8 | 4,0 |
| 8. XII. | 20,6 | 10,0 | 53,5 | 1,2 | 2,0 | 6,4 | 6,3 |
| 11. XII. | 26,2 | 11,2 | 51,4 | 2,0 | 1,1 | 4,3 | 3,8 |
| 13. XII. | 31,9 | 7,1 | 49,2 | 1,2 | 2,2 | 4,4 | 4,0 |
| 15. XII. | 30,2 | 9,5 | 48,2 | 2,0 | 1,6 | 4,6 | 3,9 |
| 18. XII. | 31,4 | 8,8 | 49,9 | 0,8 | 1,5 | 3,7 | 3,9 |
| 21. XII. | 32,2 | 8,0 | 49,4 | 1,0 | 1,3 | 5,0 | 3,1 |

*Tabelle XII.*

Kontrolltier 2 (grau), ♀. Gewicht 1960 g.

| Datum 1923 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9. XI. | — | 2 | 9 | 31 | 38 | 20 | |
| 17. XI. | — | 3 | 10 | 32 | 32 | 23 | |
| 23. XI. | — | 2 | 7 | 33 | 36 | 22 | |
| 27. XI. | — | 2 | 12 | 35 | 27 | 24 | |
| 30. XI. | — | 1 | 13 | 38 | 32 | 16 | |
| 4. XII. | Blutentzug 28 ccm (Körpergewicht 1980 g) | | | | | | |
| 6. XII. | 2 | 7 | 21 | 30 | 27 | 13 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch |
| 8. XII. | 1 | 3 | 18 | 36 | 31 | 11 | |
| 11. XII. | — | 8 | 22 | 32 | 28 | 10 | |
| 13. XII. | — | 4 | 18 | 27 | 32 | 19 | |
| 15. XII. | — | 4 | 14 | 30 | 31 | 21 | |
| 18. XII. | — | 3 | 12 | 35 | 28 | 22 | |
| 21. XII. | — | 2 | 12 | 32 | 34 | 20 | |


Hämoglobinregeneration beim 1. Blutentzug. Hämoglobinregeneration beim 2. Blutentzug.

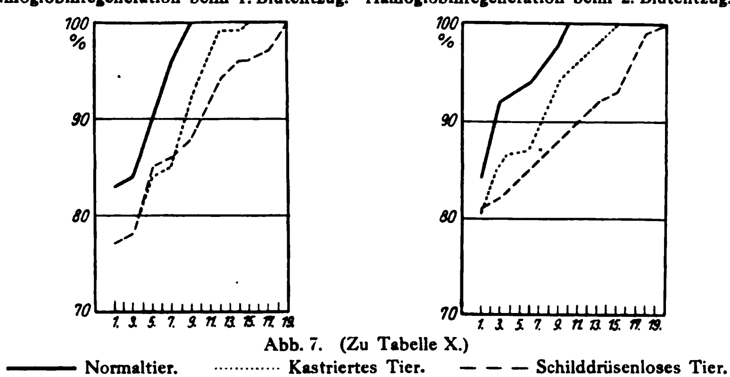



Abb. 7. (Zu Tabelle X.)

——— Normaltier. ············ Kastriertes Tier. — — — Schilddrüsenloses Tier.

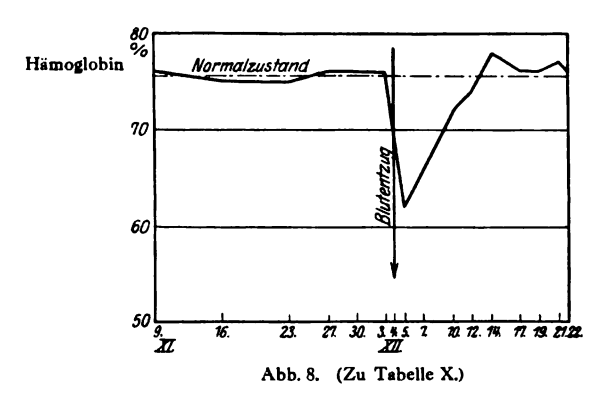



Abb. 8. (Zu Tabelle X.)

60
%
Pol. Leucocyten
50
Blutentzug
Lymphocyten
40
30
9. 17. 23. 27. 30. 4. 6. 8. 11. 13. 15. 18. 21.

Abb. 9. (Zu Tabelle XI und XII.)

*Tabelle XIII.* Versuchstier 3 (schwarz), ♀. Gewicht 2080 g.

| Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen | Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|---|
| 9. XI. | 76 | 8841 | 7. XII. | 63 83 Proz. | 9835 |
| 16. XI. | 76 | 8962 | 10. XII. | 66 87 „ | 9346 |
| 21. XI. | Kastration | | 12. XII. | 71 93 „ | 8085 |
| 23. XI. | 75 | 9450 | 14. XII. | 74 97 „ | 8588 |
| 27. XI. | 76 | 9094 | 17. XII. | 75 99 „ | — |
| 30. XI. | 77 | 9362 | 19. XII. | 76 | 8598 |
| 3. XII. | 76 | 8761 | 21. XII. | 77 | 8941 |
| 4. XII. | Blutentzug 30 ccm (Körpergewicht 2010 g) | | 22. XII. | 76 | — |
| 5. XII. | 58 75 Proz. | — | | | |

*Tabelle XIV.* Versuchstier 3 (schwarz), ♀. Gewicht 2080 g.

| Datum 1923 | Lymphocyten | | Polymorphkernige Leucocyten | | | Übergangsformen | Große mononucleäre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | klein | groß | neutrophil | eosinophil | basophil | | |
| 9. XI. | 35,0 | 13,3 | 41,5 | 0,6 | 0,4 | 6,2 | 3,0 |
| 17. XI. | 34,6 | 12,2 | 42,0 | 1,0 | 0,5 | 5,8 | 3,9 |
| 21. XI. | Kastration | | | | | | |
| 23. XI. | 35,7 | 10,9 | 42,8 | 0,8 | 0,5 | 5,8 | 3,5 |
| 27. XI. | 36,7 | 8,5 | 41,7 | 1,0 | 1,3 | 6,4 | 4,6 |
| 30. XI. | 38,4 | 12,1 | 39,2 | 1,2 | 0,9 | 5,0 | 3,2 |
| 1. XII. | 39,6 | 10,4 | 37,3 | 1,3 | 1,1 | 6,3 | 4,0 |
| 4. XII. | Blutentzug 30 ccm (Körpergewicht 2010 g) | | | | | | |
| 6. XII. | 37,0 | 12,2 | 39,0 | 1,1 | 2,4 | 4,6 | 3,7 |
| 8. XII. | 32,8 | 13,8 | 40,2 | 1,7 | 1,1 | 6,1 | 4,3 |
| 11. XII. | 34,8 | 12,5 | 38,9 | 1,5 | 2,4 | 4,9 | 5,0 |
| 13. XII. | 37,5 | 9,3 | 41,5 | 0,7 | 1,8 | 5,1 | 4,1 |
| 15. XII. | 37,1 | 9,5 | 42,1 | 0,3 | 1,2 | 5,5 | 4,3 |
| 18. XII. | 34,3 | 9,7 | 39,7 | 0,9 | 1,5 | 6,8 | 5,5 |
| 21. XII. | 36,4 | 8,2 | 41,2 | 1,1 | 1,2 | 7,2 | 4,7 |

*Tabelle XV.* Versuchstier 3 (schwarz), ♀. Gewicht 2080 g.

| Datum 1923 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9. XI. | — | 3 | 15 | 30 | 27 | 25 | |
| 17. XI. | — | 4 | 10 | 33 | 30 | 23 | |
| 21. XI. | Kastration | | | | | | |
| 23. XI. | — | 2 | 12 | 36 | 25 | 25 | |
| 27. XI. | — | 1 | 10 | 30 | 32 | 27 | |
| 30. XI. | — | 2 | 11 | 32 | 33 | 22 | |
| 1. XII. | — | 2 | 15 | 30 | 31 | 22 | |
| 4. XII. | Blutentzug 30 ccm (Körpergewicht 2010 g) | | | | | | |
| 6. XII. | — | 7 | 20 | 32 | 30 | 11 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch |
| 8. XII. | 1 | 6 | 30 | 33 | 24 | 6 | |
| 11. XII. | 1 | 7 | 30 | 32 | 27 | 14 | |
| 13. XII. | — | 5 | 22 | 31 | 27 | 15 | |
| 15. XII. | — | 3 | 18 | 27 | 35 | 17 | |
| 18. XII. | — | 4 | 20 | 31 | 30 | 15 | |
| 21. XII. | — | 4 | 16 | 30 | 32 | 18 | |

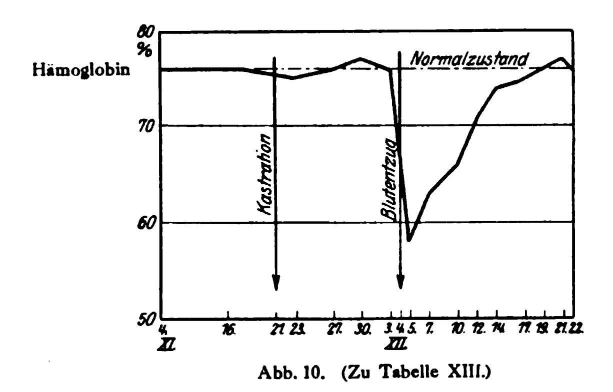



Abb. 10. (Zu Tabelle XIII.)

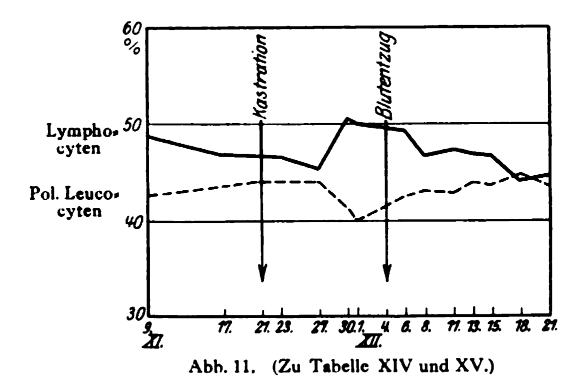



Abb. 11. (Zu Tabelle XIV und XV.)

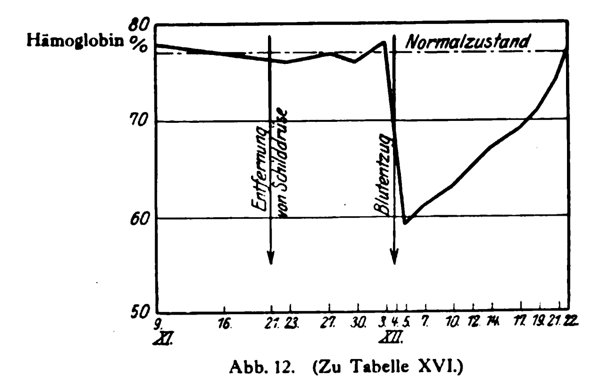



Abb. 12. (Zu Tabelle XVI.)

*Tabelle XVI.*

Versuchstier 4 (schwärzlich), ♀. Gewicht 2070 g.

| Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen | Datum 1923 | Hämoglobin | Weiße Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|---|
| 9. XI. | 78 | 8462 | 7. XII. | 61 80 Proz. | 9598 |
| 16. XI. | 77 | 8336 | 10. XII. | 63 82 „ | 9214 |
| 21. XI. | Entfernung der Schilddrüse | | 12. XII. | 65 84 „ | 9599 |
| 23. XI. | 76 | 8841 | 14. XII. | 67 87 „ | 9094 |
| 27. XI. | 77 | 9104 | 17. XII. | 69 90 „ | — |
| 30. XI. | 76 | 9038 | 19. XII. | 71 92 „ | 8825 |
| 3. XII. | 78 | 9468 | 21. XII. | 74 96 „ | 9038 |
| 4. XII. | Blutentzug 28 ccm (Körpergewicht 2000 g) | | 22. XII. | 77 | — |
| 5. XII. | 59 77 Proz. | — | | | |

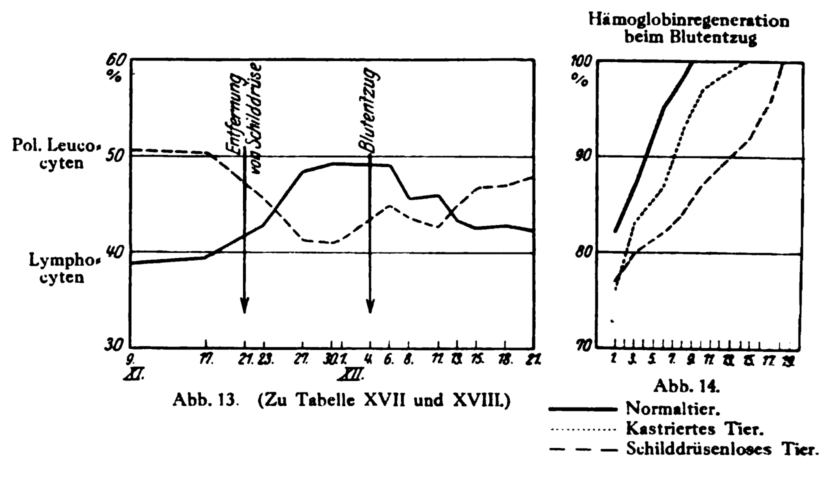



Abb. 13. (Zu Tabelle XVII und XVIII.)

Abb. 14.
——— Normaltier.
·········· Kastriertes Tier.
— — — Schilddrüsenloses Tier.

*Tabelle XVII.* Versuchstier 4 (schwärzlich), ♀. Gewicht 2070 g.

| Datum 1923 | Lymphocyten | | Polymorphkernige Leucocyten | | | Übergangsformen | Große mononucleäre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | klein | groß | neutrophil | eosinophil | basophil | | |
| 9. XI. | 28,8 | 10,0 | 48,0 | 0,9 | 1,7 | 8,3 | 2,3 |
| 17. XI. | 30,2 | 9,1 | 47,8 | 1,5 | 1,0 | 7,6 | 2,8 |
| 21. XI. | Entfernung der Schilddrüse | | | | | | |
| 23. XI. | 33,1 | 9,7 | 42,8 | 1,7 | 1,1 | 8,0 | 3,6 |
| 27. XI. | 37,2 | 10,2 | 38,1 | 2,0 | 1,2 | 6,5 | 3,8 |
| 30. XI. | 38,8 | 10,4 | 38,6 | 1,3 | 1,1 | 6,7 | 3,1 |
| 1. XII. | 38,5 | 10,8 | 38,2 | 1,5 | 1,6 | 6,8 | 2,6 |
| 4. XII. | Blutentzug 28 ccm (Körpergewicht 2000 g) | | | | | | |
| 6. XII. | 39,2 | 9,9 | 40,8 | 2,6 | 1,6 | 4,3 | 1,6 |
| 8. XII. | 33,3 | 12,2 | 39,9 | 2,7 | 1,0 | 5,8 | 5,1 |
| 11. XII. | 32,4 | 13,6 | 39,0 | 1,7 | 2,0 | 6,9 | 4,4 |
| 13. XII. | 36,1 | 7,2 | 41,9 | 1,0 | 2,1 | 5,7 | 6,0 |
| 15. XII. | 35,9 | 6,7 | 43,0 | 1,8 | 2,0 | 6,3 | 4,3 |
| 18. XII. | 35,8 | 7,0 | 43,9 | 1,0 | 2,1 | 7,1 | 3,1 |
| 21. XII. | 36,2 | 6,1 | 46,0 | 0,8 | 1,2 | 6,5 | 3,2 |

*Tabelle XVIII.* Versuchstier 4 (schwärzlich), ♀. Gewicht 2070 g.

| Datum 1923 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9. XI. | — | 3 | 12 | 37 | 28 | 20 | |
| 17. XI. | — | 5 | 9 | 35 | 28 | 23 | |
| 21. XI. | Entfernung der Schilddrüse | | | | | | |
| 23. XI. | — | 2 | 7 | 42 | 26 | 23 | |
| 27. XI. | — | 2 | 16 | 32 | 24 | 26 | |
| 30. XI. | — | 1 | 13 | 34 | 24 | 28 | |
| 1. XII. | — | 2 | 16 | 35 | 22 | 25 | |
| 4. XII. | Blutentzug 28 ccm (Körpergewicht 2000 g) | | | | | | |
| 6. XII. | — | 3 | 18 | 35 | 32 | 12 | Viele Erythrocyten polychromatisch und anisocytotisch (6. XII.–15. XII.) |
| 8. XII. | — | 6 | 15 | 35 | 33 | 11 | |
| 11. XII. | — | 5 | 26 | 30 | 24 | 15 | |
| 13. XII. | — | 5 | 20 | 33 | 30 | 12 | |
| 15. XII. | — | 4 | 22 | 31 | 27 | 16 | |
| 18. XII. | — | 4 | 27 | 30 | 28 | 11 | |
| 21. XII. | — | 3 | 20 | 31 | 33 | 13 | |

## Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

**Leon Asher.**

Nr. 63.

# Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Drüsen mit innerer Sekretion auf die Wachstumsvorgänge, zugleich Beiträge zum Konstitutionsproblem.

II. Mitteilung:

**Die Abhängigkeit der Phagocytose von inneren Sekreten, eine neue Methode zur Untersuchung der inneren Sekretion.**

Von

**Kiyoshi Furuya.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

*(Eingegangen am 8. März 1924.)*

In der voraufgehenden Mitteilung war kurz angedeutet worden, daß ein tieferes Eindringen in die Beeinflussung der Wachstumsvorgänge durch innere Sekrete eine Untersuchung der Leistungsfähigkeit der einzelnen, durch das Wachstum entstehenden Gebilde verlangt. Nun laufen ja alle Prüfungen des Einflusses innerer Sekrete anscheinend auf eine Ermittlung von Leistungsfähigkeiten zurück, beispielsweise, wenn man die Äußerungen des Stoffwechsels, die Tätigkeit des Herzens, die Reaktionen der vasomotorischen Apparate untersucht. In allen den genannten Beispielen handelt es sich um recht komplizierte Vorgänge, während das, was wir im Auge haben, eine Prüfung der einzelnen Zellen in erster Linie sein sollte. Man müßte in der Lage sein, nicht das komplizierte Phänomen des Wachstums der einzelnen Zelle, sondern eine wohldefinierte Einzelleistung derselben untersuchen zu können. Man braucht kein Anhänger des zellulären Prinzips zu sein, um eine derartige Untersuchung für wünschenswert zu erachten. Das zelluläre Prinzip kann kaum noch als das fundamentale angesehen werden, welches als letzte Einheit den Lebensvorgängen zugrunde liegt. Es

ist ein viel zu morphologisches Prinzip, um in seiner Einseitigkeit den Lebensvorgängen gerecht werden zu können. Auch sprechen viel zu viel experimentelle Tatsachen gegen die Überschätzung der zellulären Betrachtungsweise. Nichtsdestoweniger ist es ein methodologisches Postulat, die Funktionsweise einer morphologisch isolierbaren Einheit, wie es die Zelle darstellt, auf ihre Leistungsfähigkeit unter variablen Bedingungen prüfen zu können.

Was das speziellere Problem der Beziehung zwischen Leistung der Einzelzelle und der inneren Sekretion anbetrifft, so ist auch in dieser Hinsicht wünschenswert, feststellen zu können, ob selbst eine einzelne Zelle erkennbar durch innere Sekrete in wichtigen Funktionen in quantitativ bestimmbarer Weise beeinflußt wird. Schließlich leuchtet es ein, daß für das Konstitutionsproblem eine derartige Untersuchung von größter Bedeutung wäre; denn das, was man Konstitution nennt, könnte oder sollte sich in jeder einzelnen Zelle, unabhängig vom Zusammenhang, im Gesamtorganismus ausdrücken.

Im Organismus kommen Zellen vor, welche in einer fast idealen Weise die Bedingungen zu erfüllen scheinen, die vorhanden sein müßten, wenn die eben angedeuteten Wachstums-, Leistungs- und Konstitutionsprobleme an isolierten Zellen unter nicht allzu künstlichen Bedingungen untersucht werden sollen. Diese Zellen sind die Leucocyten. Sie führen im Verbande des Organismus eine Sonderexistenz und sind derartig selbständig, daß es fast der besonderen Untersuchung zu benötigen scheinen könnte, ob sie wirklich gleichzeitig auch Träger der Konstitutionsmerkmale sind, welche die übrigen, im festen Verbande des Organismus befindlichen Organzellen besitzen. Soweit man die vorliegende Anschauung und das spärliche vorliegende Versuchsmaterial beurteilen kann, dürfte die allgemeine Meinung dahin gehen, daß auch den einzelnen Leucocyten, selbst Abkömmlingen von Organzellen, die konstitutionellen Momente ihres Trägers mehr oder weniger zukommen. Auf diesen Standpunkt sollten sich vorerst die nachfolgenden Untersuchungen stellen.

Eine der wichtigsten funktionellen Leistungen der Leucocyten ist die Phagocytose. Wir besitzen eine vorzügliche Methode, experimentell und quantitativ die Phagocytose zu untersuchen, eine Methode, die *H. J. Hamburger* geschaffen hat. Die Methode und ihre Anwendung zu physikalisch-chemischen Untersuchungen ist in seinem schönen Werke: „Physikalisch-chemische Untersuchungen über Phagocyten" niedergelegt[1]). Das Prinzip dieser Methode, schon im Jahre 1899 angegeben, bestand darin, zu ermitteln, wieviel Prozent der in einer Aufschwemmung vorhandenen Pferdeleucocyten imstande waren, Kohle-

[1]) *H. J. Hamburger*, Wiesbaden 1912, J. G. Bergmann.

partikelchen aufzunehmen. Diese Prozentzahl war das Maß für den Grad der Phagocytose und damit ein Ausdruck für den Einfluß verschiedener Agenzien auf die genannte Lebenstätigkeit. Es galt nun, diese Methode von *Hamburger* der Untersuchung des Einflusses innerer Sekrete auf die Lebenstätigkeit der Leucocyten in zweckmäßiger Weise dienstbar zu machen, d. h. die Phagocytose untersuchen zu können einmal an normalen Tieren, sodann an Tieren, denen Drüsen mit innerer Sekretion entfernt worden waren, so daß sowohl die Bildung der Leucocyten wie auch die Leistungsfähigkeit derselben des Einflusses der von den betreffenden Organen gelieferten inneren Sekrete beraubt waren. Ich habe diese Methode auf Anregung von Prof. *Asher* ausgearbeitet.

Das Prinzip der Methode besteht darin, daß durch Injektion von sterilem Aleuronat in die Bauchhöhle von Kaninchen ein Leucocytenexsudat erzeugt wurde und daß diese Leucocyten aus der Bauchhöhle entnommen, nach dem Verfahren von *Hamburger* auf ihr phagocytäres Vermögen geprüft wurden. Ich untersuchte das phagocytäre Vermögen von Leucocyten des normalen Tieres, des schilddrüsenlosen Tieres und des ovariumlosen Tieres. Nachdem sich außerordentlich bemerkenswerte Unterschiede im phagocytären Vermögen herausgestellt hatten, habe ich dann die Tiere zweckentsprechenden weiteren Untersuchungen unterzogen, die ich später schildern werde.

Die Phagocyten gewann ich in der nachfolgenden Weise: Der sterile Brei von Aleuronat, etwa 8 ccm, wurde mit einer etwas dicken, stumpfen Spritze abends um 6 Uhr in die Bauchhöhle des Tieres hineingeführt. Hierauf bildete sich ein Exsudat in der Bauchhöhle, welches reichlich Phagocyten enthält. Am nächsten Morgen um 9 Uhr wurde das Exsudat mit einem dünnen weichen Katheter, welcher auf einer sterilen Spritze aufgesetzt war, aus der Peritonealhöhle herausgenommen. Bei den Manipulationen war das Tier in Rückenlage aufgebunden, und jederzeit wurde die Bauchhaut nach chirurgischen Grundsätzen desinfiziert. Um jede Darm- und Harnblasenverletzung peinlich zu vermeiden, habe ich die mit einem Ureterkatheter versehene Spritze gebraucht. Der vorn abgestumpfte Ureterkatheter wurde mit einem vorher mit einer Messerspitze gemachten ganz kleinen Bauchdeckenschnitt in die Bauchhöhle eingeführt. Nach der Aufsaugung des Exsudats wurde die Wunde mit Chloroform-Kollodium geschlossen.

Die käufliche Kohle war zu grob: ich mußte sie daher zerkleinern. Dabei waren einige Schwierigkeiten zu überwinden. Mit den gewöhnlichen Steingutmörsern war eine genügende Feinheit aller Teilchen nicht zu erreichen. Es wurde daher ein Achatmörser genommen. In demselben wurden kleine Mengen von Kohle, welche vorher im Steingutmörser verrieben worden waren, so lange zerkleinert, bis sämtliche

Kohlepartikelchen der Mörserwand anhafteten und beim Schütteln sich nicht mehr von dieser ablösten. Solange man keine Übung hat, ist es empfehlenswert, die Größe der Teilchen mit dem Mikroskop zu kontrollieren. Wenn man die zerriebene Kohle trocken aufbewahrt und dann und wann noch einmal nachschaut, so bleibt sie längere Zeit sehr gut verwendbar.

Die weitere Verarbeitung schloß sich eng an das von *Hamburger* angegebene Verfahren an. Das Exsudat wurde in gewöhnlichen gläsernen Zentrifugierröhrchen mit einer 0,7proz. Kochsalzlösung aufgenommen, in der 1,1proz. zitronensaures Natron aufgelöst war, und 3 Minuten zentrifugiert. Nach Abhebung des größten Teiles der oberen Flüssigkeit wurde eine 0,9proz. Kochsalzlösung hinzugefügt, dann vorsichtig umgeschüttelt, wieder 2½ Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit abgehoben und aufs neue mit 0,9proz. Kochsalzlösung versetzt. Nach abermaligem Zentrifugieren wurde die Flüssigkeit wieder fast ganz entfernt und schließlich wurden die Sedimente der verschiedenen Röhrchen miteinander vermischt.

Von der so erhaltenen Phagocytensuspension wurden dann mittels einer Kapillarpipette 0,2 ccm abgemessen und in 3 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit gebracht. In meinen Versuchen waren das 0,9proz. Kochsalzlösung oder Seren. Diese Lösungen befanden sich in gewöhnlichen gläsernen Zylindergläschen von etwa 2 cm Durchmesser und etwa 20 ccm Inhalt.

Das Serum wurde für den jeweiligen Versuch jederzeit frisch hergestellt. Niemals habe ich Serum von demjenigen Tiere benutzt, welches gleichzeitig in dem betreffenden Versuche die Phagocyten zu liefern hatte.

Nachdem die Phagocyten eine gewisse Zeit der Einwirkung der zu untersuchenden Flüssigkeit bei Zimmertemperatur ausgesetzt gewesen waren, wurde eine gewisse Menge Kohle hinzugesetzt. Um eine möglichst gleichmäßige Verteilung in der Flüssigkeit zu haben, schüttelte ich die Gläschen einigemal vorsichtig.

Sämtliche vollständig gleich behandelte, mit Kohlephagocytensuspensionen gefüllte Zylindergläschen wurden jetzt im Brutschrank einer Temperatur von 37° ausgesetzt und alle 10 Minuten aus dem Brutschrank genommen und vorsichtig hin und her bewegt, um eine dauernde gleichmäßige Mischung und Berührung von Kohle und Phagocyten aufrecht zu erhalten. Im ganzen verweilten die Gläschen 40 Minuten im Brutschrank; dann wurden sie alle zu gleicher Zeit an einen kühlen Ort in den Keller gebracht, dort stehengelassen, und ein oder mehrere Stunden später wurden mikroskopische Präparate angefertigt. Nach dem Schütteln habe ich die Kohlenphagocytensuspension in einer Kapillarpipette aufgenommen, einen Tropfen davon auf Objektträger



gebracht und untersucht. Die Zählung erfolgte mittels Okularnetzmikrometers und verschiebbarem Objekttisch, wie er zum Zählen üblich ist. Die angewandte Optik war Leitz' Objektiv 6, Okular 3.

Zur späteren Fütterung benutzte ich Tabletten Thyroid *Gland* und als Ovarialpräparat die Tablette Varium von *Burroughs Welcome & Co.*; jede Tablette wog 0,234 g. Ich habe, um eine sichere Aufnahme der Präparate zu erzielen, jedesmal dieselben in Breiform mit der Magensonde gereicht.

Außer der Bestimmung der Phagocytose habe ich noch das histologische Blutbild der Phagocyten des Exsudats und das *Arneth*sche Bild derselben hergestellt.

Ich beginne zunächst mit der Besprechung des außerordentlich klaren und entscheidenden Versuchsresultates, welches die Bestimmung des phagocytären Vermögens ergeben hat. Das eindeutige Resultat bringe ich in *Tabelle I.* Aus dieser Tabelle geht hervor, daß bei einem normalen Kaninchen durchschnittlich 30 Proz. der Phagocyten des sterilen Exsudats Kohlepartikelchen aufgenommen haben. Dieses Resultat stammt aus sechs Versuchsreihen und wurde ermittelt durch eine Zählung von über 700 bis 900 Phagocyten. Beim ovariumlosen Tiere ergibt die Untersuchung unter sonst ganz genau gleichen Bedingungen, daß durchschnittlich nur 24 Proz. der Exsudatzellen phagocytiert haben. Auch dieses Resultat ist unter den gleichen experimentellen Bedingungen wie das voraufgehende gewonnen worden. Beim schilddrüsenlosen Kaninchen ergibt sich die bekannte Tatsache, daß durchschnittlich nur 7 Proz. der Leucocyten phagocytiert haben. Die geringste Zahl, die gefunden wurde, war 4 Proz., die höchste 9 Proz. Der Unterschied namentlich bei dem schilddrüsenlosen Tiere gegenüber dem Normaltiere ist ein so außerordentlich großer, daß er weit über jedes mögliche Maß von Versuchsvariablen und Versuchsfehlern hinausgeht. Aber auch die Ergebnisse bei dem ovariumlosen Tiere verdienen dieselbe Beurteilung. Der Tatbestand, welcher durch die eben mitgeteilte Versuchsreihe entdeckt worden ist, läßt sich wohl dahin am schärfsten fassen, daß er zeigt, wie sehr das Fehlen von Drüsen mit innerer Sekretion selbst die am meisten autonomen Zellen des tierischen Organismus in ihrer Leistungsfähigkeit verändert, in einer Leistungsfähigkeit, die sich streng quantitativ und nicht bloß durch eine qualitative Beschreibung bewerten läßt. Man darf auch sagen, daß die veränderte Konstitution des tierischen Organismus bis hinunter in die konstitutiven Eigenschaften autonomer zellulärer Gebilde verfolgt worden ist.

Es ist klar, daß ein Ergebnis von so einschneidender Bedeutung erheblich an Wert gewinnen würde, wenn es noch auf andere Weise gestützt werden könnte. Ich bin in der Lage, einen weiteren Beweis mit einer anderen Methodik zu liefern. Diesen Beweis bringe ich in *Tabelle II.*

*Tabelle I.* Phagocytäres Vermögen in einer 0,9proz. NaCl-Lösung.

| | Datum | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | |
|---|---|---|---|---|---|
| Kontrollkaninchen | 1923 20. XII. | 857 | 285 | 33 | 30 Proz. |
| | 1924 4. I. | 958 | 284 | 30 | |
| | 9. I. | 864 | 245 | 28 | |
| | 11. I. | 807 | 258 | 32 | |
| | 15. I. | 858 | 220 | 26 | |
| | 17. I. | 729 | 202 | 27 | |
| Ovariumloses Kaninchen | 1923 20. XII. | 746 | 193 | 26 | 24 Proz. |
| | 1924 4. I. | 700 | 184 | 26 | |
| | 9. I. | 758 | 152 | 20 | |
| | 11. I. | 820 | 180 | 22 | |
| | 15. I. | 813 | 194 | 24 | |
| | 17. I. | 855 | 210 | 24 | |
| Schilddrüsenloses Kaninchen | 1923 20. XII. | 752 | 32 | 4 | 7 Proz. |
| | 1924 4. I. | 804 | 56 | 7 | |
| | 9. I. | 758 | 48 | 6 | |
| | 11. I. | 792 | 63 | 8 | |
| | 15. I. | 717 | 65 | 9 | |
| | 17. I. | 855 | 80 | 9 | |

*Tabelle II.* Prozentzahl der Makrophagen, welche polynucleäre Leucocyten aufgenommen haben, im Verhältnis zu allen untersuchten Makrophagen in dem Exsudat.

| | Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Makrophagen | Anzahl der Makrophagen, welche polynucleäre Leucocyten aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Makrophagen, welche polynucleäre Leucocyten aufgenommen haben |
|---|---|---|---|---|
| Kontrollkaninchen | 12. I. | 886 | 214 | 24 |
| | 16. I. | 650 | 96 | 15 |
| | 22. I. | 326 | 81 | 25 |
| | 26. I. | 390 | 152 | 28 |
| | 5. II. | 242 | 86 | 35 |
| | 8. II. | 422 | 119 | 28 |
| Ovariumloses Kaninchen | 12. I. | 776 | 103 | 12 |
| | 16. I. | 469 | 42 | 8 |
| | 22. I. | 360 | 38 | 9 |
| | 26. I. | 430 | 112 | 21 |
| | 5. II. | 620 | 61 | 10 |
| | 8. II. | 540 | 98 | 18 |
| Schilddrüsenloses Kaninchen | 12. I. | 727 | 45 | 6 |
| | 16. I. | 563 | 12 | 2 |
| | 22. I. | 500 | 26 | 5 |
| | 26. I. | 457 | 89 | 16 |
| | 5. II. | 311 | 28 | 9 |
| | 8. II. | 356 | 40 | 11 |

In den gefärbten Präparaten der Exsudatzellen fanden sich wesentlich zwei Arten von Zellen, nämlich sogenannte Makrophagen und sogenannte neutrophile polymorphkernige Leucocyten. *De Haan* hat in *Hamburgers* Institut in Groningen die Beobachtung gemacht, daß eine ganze Anzahl von polymorphkernigen Leucocyten durch die Makrocyten phagocytiert werden. Diese Beobachtung von *de Haan* kann ich vollständig bestätigen, und ich habe die von ihm beschriebene Tatsache mit herangezogen zum Vergleich des normalen, des ovariumlosen und des schilddrüsenlosen Tieres. Es ergab sich mit großer Deutlichkeit, daß beim normalen Tiere der größte Prozentsatz von phagocytierenden Makrophagen feststellbar war, geringer beim ovariumlosen Kaninchen und am geringsten beim schilddrüsenlosen Tiere. Beim normalen Tiere war der niedrigste Prozentsatz 15 Proz. und der größte 35 Proz., beim ovariumlosen der niedrigste 8 Proz. und der höchste 21 Proz., und beim schilddrüsenlosen Kaninchen der niedrigste Prozentsatz 2 Proz. und der höchste 16 Proz. Aus diesen Zahlen geht deutlich hervor, daß die Makrocyten des schilddrüsenlosen Tieres die geringste Befähigung zum Phagocytieren der polynucleären Leucocyten besitzen, die Makrocyten des normalen Tieres die größte, während das ovariumlose Tier in der Mitte steht.

Die Schlußfolgerungen, zu welchen die soeben mitgeteilten Tatsachen führen, sind genau die gleichen, wie sie vorhin gezogen wurden. Der Wert dieser Reihe besteht darin, daß mit einer ganz anderen Methode als der *Hamburger*schen, einer Methode, wo die Versuchsvariablen sehr viel geringer sind, das gleiche Resultat erhalten werden konnte.

In den *Tabellen III* und *IV* gebe ich eine Übersicht über das relative histologische Blutbild der weißen Blutzellen in dem Exsudat und des sogenannten *Arneth*schen Blutbildes. Es ist sehr bemerkenswert, daß in diesen beiden Tabellen ein erheblicher Unterschied der drei Tiere in ihren so verschiedenen Zuständen nicht zum Ausdruck gelangt. Es zeigt sich in sehr überzeugender Weise die große Überlegenheit der funktionellen Methodik über die bloß morphologische. Funktionell ist die Verschiedenheit der Zellen eine sehr große, morphologisch scheinen die Zellen im wesentlichen übereinstimmend zu sein.

Ich habe schon angedeutet, daß das phagocytäre Vermögen von Zellen von einer Mehrheit von Variablen abhängt oder wenigstens abhängen kann. Um ein tieferes Verständnis der gefundenen Tatsachen und für den Einfluß der beiden untersuchten Drüsen mit innerer Sekretion zu gewinnen, war eine weitere Analyse erforderlich. Der Unterschied in dem Leistungsvermögen der Exsudatzellen konnte herrühren von einer konstitutionellen Schwäche der Gewebe, denen diese Zellen ihren Ursprung verdanken. Er könnte aber auch davon herrühren, daß

*Tabelle III.*

Das relative histologische Blutbild der weißen Blutzellen in dem Exudsat.

| | Datum 1924 | Neutrophile, polymorphkernige Leucocyten | Makrophagen |
|---|---|---|---|
| Kontrollkaninchen ....... | 5. I. | 80,2 | 19,8 |
| | 10. I. | 73,1 | 26,9 |
| | 12. I. | 77,7 | 22,3 |
| | 16. I. | 78,4 | 21,6 |
| | 18. I. | 81,2 | 18,8 |
| | 22. I. | 78,1 | 21,9 |
| Ovariumloses Kaninchen .... | 5. I. | 81,4 | 18,6 |
| | 10. I. | 74,6 | 25,4 |
| | 12. I. | 74,8 | 25,2 |
| | 16. I. | 80,4 | 19,6 |
| | 18. I. | 82,0 | 18,0 |
| | 22. I. | 81,0 | 19,0 |
| Schilddrüsenloses Kaninchen .. | 5. I. | 84,2 | 15,8 |
| | 10. I. | 75,0 | 25,0 |
| | 12. I. | 69,8 | 30,2 |
| | 16. I. | 80,7 | 19,3 |
| | 18. I. | 85,4 | 14,6 |
| | 22. I. | 85,2 | 14,8 |

*Tabelle IV.*

Das *Arneth*sche Blutbild des Exsudats.

| | Datum 1924 | Myelocyten | Form mit wenig eingebuchtetem Kern | Form mit tief eingebuchtetem Kern | Zweikernige Form | Dreikernige Form | Vierkernige Form |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrollkaninchen | 5. I. | 3 | 25 | 14 | 39 | 15 | 4 |
| | 10. I. | 6 | 19 | 15 | 45 | 12 | 3 |
| | 12. I. | 4 | 6 | 16 | 43 | 19 | 10 |
| | 16. I. | 10 | 16 | 19 | 38 | 14 | 3 |
| | 22. I. | 5 | 16 | 18 | 36 | 17 | 8 |
| | 26. I. | 1 | 4 | 12 | 43 | 24 | 16 |
| Ovariumloses Kaninchen | 5. I. | 0 | 15 | 18 | 30 | 21 | 16 |
| | 10. I. | 2 | 15 | 17 | 48 | 15 | 3 |
| | 12. I. | 3 | 18 | 18 | 40 | 10 | 11 |
| | 16. I. | 9 | 15 | 16 | 50 | 7 | 3 |
| | 22. I. | 3 | 12 | 20 | 43 | 11 | 11 |
| | 26. I. | 0 | 5 | 14 | 33 | 32 | 16 |
| Schilddrüsenloses Kaninchen | 5. I. | 0 | 1 | 12 | 36 | 31 | 20 |
| | 10. I. | 1 | 4 | 17 | 41 | 25 | 12 |
| | 12. I. | 2 | 5 | 12 | 40 | 30 | 11 |
| | 16. I. | 5 | 12 | 29 | 39 | 14 | 11 |
| | 22. I. | 2 | 6 | 15 | 38 | 32 | 7 |
| | 26. I. | 0 | 6 | 10 | 33 | 33 | 18 |

diesen Zellen chemisch in quantitativer Beziehung etwas fehlt, was normale Zellen besitzen. Der Unterschied könnte aber auch davon herrühren, daß die Körperflüssigkeit, in denen die Exusdatzellen sich

befinden und welche vom Blutplasma herstammen dürften, beim ovarium- und schilddrüsenlosen Tiere gewisser Stoffe ermangelte, die erforderlich sind, um die Phagocytose auf die Höhe des normalen Tieres zu bringen. Unwillkürlich wird man auch an Gedankengänge erinnert, wie sie in der *Wright*schen Opsoninlehre vertreten werden.

Auf Grund der entwickelten Gesichtspunkte schritt ich zuvörderst zu einer Untersuchung des phagocytären Vermögens der Exsudatzellen anstatt in Kochsalzlösung im Serum von Normaltieren. Die Ergebnisse dieser Reihe finden sich in *Tabelle V*. Es zeigt sich, daß die Phagocytose beim Normaltiere anscheinend etwas gehoben wird, indem ich einen durchschnittlichen Wert von 36 Proz. erhalte, gegenüber 30 Proz. in der früheren. Beim ovariumlosen Kaninchen hebt sich die Phagocytose im Serum auf 30 Proz. gegenüber 24 Proz. in Kochsalzlösung, und beim schilddrüsenlosen Tiere erhöht sich die Phagocytose auf 23 Proz. gegenüber 7 Proz. in der früheren Reihe. Das mitgeteilte Ergebnis besagt zunächst, daß im Serum Stoffe vorhanden sind, welche das phagocytäre Vermögen von Exsudatzellen zu erhöhen vermögen. Auf welchen Eigenschaften des betreffenden Serums diese Tatsache beruht, läßt sich zuvörderst nicht sagen. Z. B. kann aus dieser Versuchsreihe noch nicht der Schluß gezogen werden, daß etwa ein Hormonengehalt des Serums des Normaltieres für die Steigerung der Leistungsfähigkeit der weißen Blutkörperchen verantwortlich sei. Immerhin ist es bemerkenswert, daß das darniederliegende Vermögen der weißen Blutkörperchen von ovariumlosen und von schilddrüsenlosen Tieren gehoben werden kann. Es ist hieraus der Schluß zu ziehen, daß im wesentlichen Aufbau dieser Zellen der Unterschied kein großer sein kann.

*Tabelle V.*

Phagocytäres Vermögen im Serum des Normalkaninchens.

| | Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | |
|---|---|---|---|---|---|
| Kontrollkaninchen | 25. I. | 843 | 323 | 38 | 36 Proz. |
| | 7. II. | 851 | 288 | 34 | |
| | 15. II. | 657 | 300 | 35 | |
| Ovariumloses Kaninchen | 25. I. | 649 | 260 | 31 | 30 Proz. |
| | 7. II. | 742 | 211 | 28 | |
| | 15. II. | 721 | 230 | 32 | |
| Schilddrüsenloses Kaninchen | 25. I. | 840 | 182 | 22 | 23 Proz. |
| | 7. II. | 686 | 160 | 23 | |
| | 15. II. | 668 | 161 | 24 | |

Die nächste Versuchsreihe war so angeordnet, daß ich das phagocytäre Vermögen der Phagocyten, welche vom Normalkaninchen

stammten, im Serum der schilddrüsenlosen Kaninchen untersuchte. In dieser Versuchsreihe fand ich ein phagocytäres Vermögen von nur durchschnittlich 13 Proz., demnach ein tiefes Herabdrücken ihrer Leistungsfähigkeit. Da nun diese Zellen sowohl in Kochsalzlösung wie im Serum von normalen Kaninchen ein sehr hohes phagocytäres Vermögen zeigen, muß die Herabsetzung von Momenten herrühren, welche in dem Serum von schilddrüsenlosen Tieren gelegen sind. Die Protokolle dieser Versuchsreihen finden sich in *Tabelle VI*.

*Tabelle VI.*

Phagocytäres Vermögen der Phagocyten, welche von Normalkaninchen stammen, im Serum des schilddrüsenlosen Kaninchens.

| Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 30. I. | 837 | 119 | 14 |
| 1. II. | 630 | 78 | 12 |
| 5. II. | 518 | 74 | 13 |

Die gefundene Tatsache macht den Eindruck, als ob im Serum des schilddrüsenlosen Tieres nicht bloß ein Fehlen von etwas vorhanden sei, sondern sogar ein Stoff, der direkt eine hemmende Wirkung auf das phagocytäre Vermögen von weißen Blutkörperchen besitzt, die von normalen Tieren stammen. Diese Erklärung drängt sich angesichts der Tatsache auf, daß in einer reinen Kochsalzlösung das phagocytäre Vermögen viel größer ist. Wenn die Annahme, die ich vorerst als eine mögliche und nicht die einzige, an die man denken kann, aufstellen möchte, zuträfe, so läge wieder einmal ein Anhaltspunkt dafür vor, daß im Blute von schilddrüsenlosen Tieren doch auch ein nicht indifferenter Stoff kreise. Es ist bekannt, daß in der Literatur von Zeit zu Zeit Angaben auftreten, die darauf hinauslaufen, daß der Schilddrüse neben der innersekretorischen Leistung auch diejenige einer entgiftenden zukomme; Befunde, wie mein soeben mitgeteilter, würden sich solchen Angaben anreihen und werden nun auch von allen denen verwertet werden können, welche nach wie vor der Schilddrüse eine entgiftende Funktion zuzusprechen geneigt sind.

Die nächste Versuchsreihe, in *Tabelle VII* mitgeteilt, befaßte sich mit dem phagocytären Vermögen von Exsudatzellen, welche von einem normalen Kaninchen stammen und in dem Serum des ovariumlosen Kaninchens auf ihr phagocytäres Vermögen hin untersucht wurden. Die Ergebnisse dieser Reihe zeigen keine allzu große Veränderung, aber immerhin eine kleine Verminderung des phagocytären Vermögens gegenüber dem Vermögen der gleichen Zellen in Kochsalzlösung, ausgesprochen jedoch gegenüber dem Verhalten der Exsudatzellen im

Serum des Normaltieres. Denn durchschnittlich phagocytieren nur 26 Proz. der normalen Zellen im Serum des ovariumlosen Kaninchens, während durchschnittlich 36 Proz. im Serum von Normaltieren phagocytieren. Auch diese Tatsache erweckte den Eindruck eines gewissen hemmenden Einflusses des Serums von ovariumlosen Tieren.

*Tabelle VII.*

Phagocytäres Vermögen der Phagocyten, welche von Normalkaninchen stammen, im Serum des ovariumlosen Kaninchens.

| Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 30. I. | 776 | 216 | 28 |
| 1. II. | 606 | 148 | 25 |
| 5. II. | 507 | 164 | 24 |

In der nächsten Versuchsreihe, *Tabelle VIII* meiner Protokolle, habe ich das phagocytäre Vermögen der Exsudatzellen untersucht, welche vom ovariumlosen Kaninchen stammen und in dem Serum von schilddrüsenlosen Kaninchen beobachtet wurden. Hier zeigt sich eine sehr deutliche Herabsetzung gegenüber dem Einfluß des Normalserums auf die gleichen Zellen; während in letzterem Falle durchschnittlich 30 Proz. Phagocytose beobachtet wurde, sind es im ersteren Falle durchschnittlich nur 21 Proz., etwas weniger als in reiner Kochsalzlösung. Auffallend ist, daß das phagocytäre Vermögen dieser Zellen weniger herabgesetzt wird als dasjenige von normalen Zellen im gleichen Serum von schilddrüsenloser Herkunft.

*Tabelle VIII.*

Phagocytäres Vermögen der Phagocyten, welche von ovariumlosen Kaninchen stammen, im Serum des schilddrüsenlosen Kaninchens.

| Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 7. II. | 682 | 162 | 23 |
| 12. II. | 564 | 113 | 20 |
| 14. II. | 665 | 140 | 21 |

In der nächsten Versuchsreihe, mitgeteilt in *Tabelle IX*, wurde das phagocytäre Vermögen der Exsudatzellen untersucht, welche von schilddrüsenlosen Kaninchen stammten und in dem Serum von schilddrüsenlosen Tieren beobachtet wurden. In dieser Reihe zeigte sich eine geringfügige Erhöhung des phagocytären Vermögens dieser Zellen gegenüber der Beobachtung derselben Zellen in reiner Kochsalzlösung. Während in letzterem Falle der Durchschnitt der Phagocytose 7 Proz. betrug, beträgt er in der vorliegenden Versuchsreihe 11 bis 12 Proz.

Es scheint demnach, daß das Serum an und für sich etwas günstiger ist als Kochsalzlösung, aber es bleibt als bei weitem hervorstechendste Tatsache der Tiefstand des phagocytären Vermögens, aus dem hervorgeht, daß selbst bei dem Zusammenwirken von Zellen und Serum, wenn beide von einem schilddrüsenlosen Tiere stammen, die konstitutionelle Minderwertigkeit in den Leistungen eine in die Augen springende ist.

*Tabelle IX.*

Phagocytäres Vermögen der Phagocyten, welche von schilddrüsenlosen Kaninchen stammen, im Serum des schilddrüsenlosen Kaninchens.

| Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 7. II. | 572 | 63 | 11 |
| 12. II. | 544 | 64 | 12 |
| 14. II. | 602 | 73 | 12 |

In der nächsten Versuchsreihe, *Tabelle X* meiner Protokolle, wurde das phagocytäre Vermögen der Zellen des schilddrüsenlosen Kaninchens in dem Serum des ovariumlosen Kaninchens untersucht. Die Ergebnisse der beiden Versuche zeigten, daß die Phagocytose genau den gleichen Wert erreichte, wie unter dem Einfluß von normalem Serum, nämlich 23 Proz. Phagocytose. Daraus scheint hervorzugehen, daß das überwiegende Moment der Einfluß ist, daß das Serum von einem Tiere stammt, welches im Besitze seiner Schilddrüse ist. Die Übereinstimmung der Wirkung von Normalserum und desjenigen von ovariumlosen Tieren spricht sehr zugunsten der Anschauung, daß die Schilddrüse den beiden Sera die Eigenschaft verliehen hat, das darniederliegende Vermögen von Leucocyten aus einem schilddrüsenlosen Tiere zu heben.

*Tabelle X.*

Phagocytäres Vermögen der Phagocyten, welche von schilddrüsenlosen Kaninchen stammen, im Serum des ovariumlosen Kaninchens.

| Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 15. II. | 708 | 168 | 24 |
| 18. II. | 624 | 139 | 22 |

In meiner letzten Versuchsreihe bin ich dann dazu übergegangen, das Normaltier und das schilddrüsenlose Tier tagelang mit Schilddrüsenpräparat zu füttern, das ovariumlose Tier mit Ovariumpräparat. Das Normaltier habe ich mit Schilddrüsenpräparat gefüttert, um dasselbe als ein Kontrolltier auch für diese Art des Eingriffs zu haben. Die Versuchsergebnisse finden sich in *Tabelle XI*. Die Ergebnisse sind,

namentlich was diejenigen der Schilddrüsenfütterung anbetrifft, außerordentlich klar. Ich nehme als wichtigstes voraus, daß die Fütterung mit Schilddrüsentabletten beim schilddrüsenlosen Tiere das phagocytäre Vermögen der Leucocyten auf die Höhe des Normaltieres zurückbrachte. Die Schilddrüsenfütterung hat demnach noch günstiger gewirkt als die Untersuchung im Serum von normalen Tieren. Ich glaube, daß die Tatsache, daß Fütterung der Tiere mit Schilddrüse das phagocytäre Vermögen der Leucocyten vollständig wieder herstellt, eine kräftige Stütze der Anschauung ist, daß infolge des Fehlens der chemischen Regulation des Körpers durch die Schilddrüse die funktionelle Unterwertigkeit der Leucocyten herbeigeführt wird. Das Ergebnis dieser Versuchsreihe schließt sich in harmonischer Weise den übrigen von mir mitgeteilten Tatsachen an.

*Tabelle XI.*

Fütterung des Normaltieres und des schilddrüsenlosen Tieres mit „Thyroid Gland“ und des ovariumlosen Tieres mit „Varium“. Phagocytäres Vermögen in einer 0,9proz. NaCl-Lösung.

| | Datum 1924 | Anzahl der untersuchten Phagocyten | Anzahl der Leucocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl derjenigen Phagocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|---|
| Nach Fütterung mit 35 Tabletten innerhalb 8 Tagen. | | | | |
| Normaltier . . . | 19. II. | 736 | 178 | 24 |
| Ovariumloses Tier | 19. II. | 927 | 277 | 30 |
| Schilddrüsenloses Tier. | 19. II. | 867 | 269 | 31 |
| Nach Fütterung mit 53 Tabletten innerhalb 11 Tagen. | | | | |
| Normaltier . . . | 22. II. | 690 | 173 | 25 |
| Ovariumloses Tier | 22. II. | 692 | 201 | 29 |
| Schilddrüsenloses Tier. | 22. II. | 701 | 217 | 31 |
| Nach Fütterung mit 62 Tabletten innerhalb 14 Tagen. | | | | |
| Normaltier . . . | 26. II. | 639 | 166 | 26 |
| Ovariumloses Tier | 26. II. | 701 | 217 | 31 |
| Schilddrüsenloses Tier. | 26. II. | 539 | 162 | 30 |

Was die Einwirkung des Schilddrüsensekrets, wenn wir diesen Ausdruck gebrauchen dürfen, auf das Normaltier anlangt, so ist es nicht uninteressant, daß dieses im Gegensatz zum Einfluß auf das schilddrüsenlose Tier eher eine etwas herabsetzende Wirkung besitzt. Diese Tatsache hat ihr besonderes Interesse angesichts der Frage, ob man beim Tiere einen hyperthyreotischen Zustand erzeugen könne, und namentlich im Hinblick auf die viel diskutierte Frage, ob man krankhafte Erscheinungen einfach auf ein gewisses Übermaß eines normalen Sekretproduktes zurückführen dürfe. Die von mir mitgeteilte Tatsache spricht ebenfalls zugunsten der letzteren Anschauung. Es ist nicht erforderlich, die Herabsetzung des phagocytären Vermögens der Zellen

durch eine Dysthyreose zu erklären; es genügt das über die physiologischen Grenzen, über das Maß gehende Vorhandensein von Schilddrüsenstoffen.

Auch das phagocytäre Vermögen des ovariumlosen Tieres wurde durch Füttern von Ovariumpräparat zur ursprünglichen Höhe wieder hergestellt.

Die mitgeteilten Versuche haben gelehrt, daß die neue Methode der funktionellen Leistungswirkung sich bewährt. Sie gewährt im Sinne der Ausführungen meiner Einleitung einen quantitativen Einblick in das konstitutionelle Verhalten des Körpers, sie erweitert die Möglichkeiten der Erforschung der inneren Sekretion. Die letzten Elemente physiologischer Art, bis zu welchem sich vor kurzem die Einflüsse der inneren Sekretion beziehentlich des Fehlens derselben hatten verfolgen lassen, waren das Respirationsvermögen einzelner Organe, wie *Rohrer* jüngst im physiologischen Institut in Bern nachgewiesen[1]) hat, und die Permeabilität der Kapillarzellen. Jetzt ist die Grenze durch die vorliegende Arbeit bis zu den in das Exsudat auswandernden Leucocyten vorgeschoben. Das besondere Interesse, welches sich an diese Feststellung knüpft, ist die Erkenntnis, daß die konstitutionelle Eigenart, geschaffen insbesondere durch die Schilddrüse, sich selbst in den individuellen höchst autonomen Leucocyten ausprägt. Auch diese, eine Sonderexistenz führenden Zellen, erhalten Charakteristika, die in letzter Linie den Drüsen mit innerer Sekretion des Erzeugers dieser Zellen entstammen.

Es bedarf nicht vieler Worte, daß die Befunde, welche ich mitgeteilt habe, neue Ausblicke eröffnen und zur experimentellen Weiterarbeitung mannigfacher Probleme anregen. Ich nenne hier nur den Einfluß anderer Drüsen mit innerer Sekretion auf das phagocytäre Vermögen von Leucocyten, aber auch eine weitergehende Analyse des Zustandekommens der Phagocytose. Namentlich wird man einen Anschluß zu suchen haben an *Wrights* bekannte Lehre von den Opsoninen, und es wird ein Anschluß dieser Lehre an diejenige von der inneren Sekretion oder der chemischen Regulation im Organismus zu suchen sein. Alle diese Probleme werden im Berner physiologischen Institut in Angriff genommen.

Zusammengefaßt, sind die wesentlichen Resultate der voraufgehenden Arbeit die folgenden:

1. *Hamburgers* Methode der Prüfung des phagocytären Vermögens der Leucocyten wurde zu einem Verfahren umgearbeitet, welches, zur mehrfachen Nutzung am gleichen Tiere geeignet, Probleme der inneren Sekretion zu untersuchen gestattete. Das Verfahren besteht in Erzeugung eines sterilen Exsudats und Untersuchung des phagocytären Vermögens der Exsudatzellen.

[1]) *Rohrer*, diese Zeitschr. **145**, 154, 1924.



2. Entfernung der Ovarien setzt das Vermögen der Leucocyten, in Kochsalzlösung Kohle zu phagocytieren, merklich herab. Entfernung der Schilddrüse vermindert das phagocytäre Vermögen der Exsudatzellen auf einen ganz niedrigen Wert.

3. Die beschriebene Verminderung des phagocytären Vermögens läßt sich auch an der Herabsetzung der Phagocytose der polynucleären Exsudatleucocyten durch die Makrocyten erkennen.

4. Im Serum von normalen Kaninchen hebt sich das phagocytäre Vermögen sowohl normaler wie schilddrüsenloser wie ovariumloser Herkunft entnommener Exsudatleucocyten; am meisten wird das phagocytäre Vermögen der vom schilddrüsenlosen Tiere stammenden Zellen gehoben, womit wahrscheinlich gemacht wird, daß weniger der Aufbau der Zellen als das Milieu, in dem sie sich befinden, die untersuchte Leistungsfähigkeit bedingt.

5. Für letzteres spricht auch, daß morphologische Unterschiede in den drei untersuchten Zellarten nicht erkennbar sind.

6. Serum von schilddrüsenlosen Kaninchen setzt das phagocytäre Vermögen von normalen Exsudatzellen herab. Diese Tatsache scheint zugunsten einer Hemmungswirkung des Serums schilddrüsenloser Tiere zu sprechen; auch das Serum von ovariumlosen Kaninchen hat einen geringfügigen, hemmenden Einfluß.

7. Auch das phagocytäre Vermögen von Zellen des ovariumlosen Kaninchens wird etwas durch das Serum von schilddrüsenlosen Kaninchen herabgesetzt.

8. Das phagocytäre Vermögen von Leucocyten des schilddrüsenlosen Tieres wird geringfügig durch das Serum schilddrüsenloser Kaninchen gehoben; es bleibt aber das phagocytäre Vermögen auf einem sehr niedrigen Niveau.

9. Serum von ovariumlosen Kaninchen hebt das phagocytäre Vermögen von Zellen des schilddrüsenlosen Kaninchens sehr erheblich.

10. Die unter 4. und 9. genannten Tatsachen sprechen dafür, daß im Serum von Schilddrüsenträgern entweder ein Sekret ist oder ein Zustand herrscht, von der Schilddrüse herstammend, welcher der Phagocytose günstig ist.

11. Durch Fütterung mit Schilddrüsentabletten wird das phagocytäre Vermögen der Zellen vom schilddrüsenlosen Tiere vollständig auf die normale Höhe zurückgebracht, während das phagocytäre Vermögen von Zellen des Normaltieres ein wenig herabgesetzt wird. Erstere Tatsache ist ein neuer Beweis für die Beherrschung des phagocytären Vermögens durch die Schilddrüse, letztere spricht zugunsten der Auffassung, daß ein Übermaß von Schilddrüse schädlich wirken kann.

12. Fütterung mit Ovariumtabletten restituiert das phagocytäre Vermögen der Zellen des ovariumlosen Tieres.

## Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

**Leon Asher.**

Nr. 64.

# Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Drüsen mit innerer Sekretion auf die Wachstumsvorgänge, zugleich Beiträge zum Konstitutionsproblem.

III. Mitteilung:

### Untersuchung über das Wachstum der Haare und über die kompensatorische Hyperplasie der Schilddrüse nach operativer Entfernung innersekretorischer Organe.

Von

**Kiyoshi Furuya.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

*(Eingegangen am 8. März 1924.)*

Mit 6 Abbildungen im Text.

Die nachfolgende Untersuchung beschäftigt sich innerhalb des Rahmens des früher entwickelten Programms mit einigen spezielleren das Wachstum betreffenden Fragen, mit Wachstumserscheinungen unter dem Einfluß innersekretorischer Organe.

Eine Wachstumserscheinung, über deren Verfolg ich zuerst berichte, wurde zum Gegenstand der Untersuchung gemacht, weil aus Anlaß der hauptsächlichsten Aufgabe meiner Arbeit methodologisch diese Erscheinung sich aufdrängte. Es handelt sich um das Wachstum der Haare unter dem Einfluß der Exstirpation des Ovariums und der Exstirpation der Schilddrüse. Da ich mehrfache Blutuntersuchungen anstellen mußte, wurden die Ohren der Versuchstiere in einem bestimmten Bezirk kurz geschoren. Es zeigte sich im Verlaufe der Untersuchung ein charakteristischer Unterschied in der Art und Weise, wie das Wiederwachstum der Haare eintrat. Der Befund wird am anschaulichsten wiedergegeben in den drei Abb. 1, 2 und 3. Es handelt



Abb. 1. Normaltier.



Abb. 2. Ovariumloses Tier.



Abb. 3. Schilddrüsenloses Tier.

Die äußere Fläche der Ohrläppchen von allen drei Kaninchen wurde am 9. November 1923 abrasiert und am 22. Dezember photographiert.

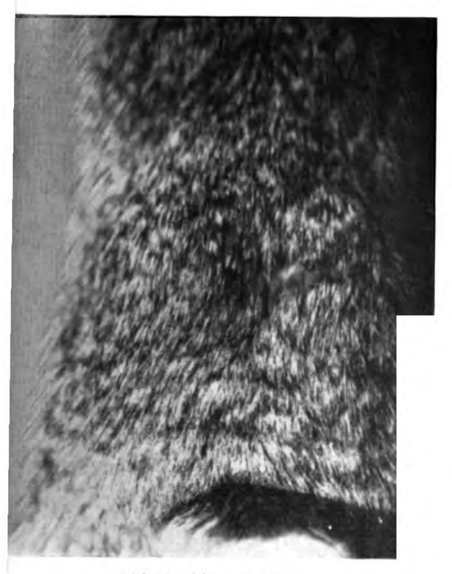


Abb. 4. Normaltier.

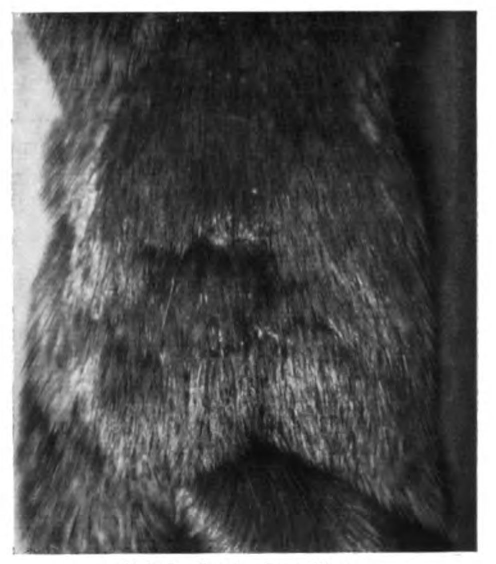


Abb. 5. Ovariumloses Tier.



Abb. 6. Schilddrüsenloses Tier.

Die Mitte des hinteren Rückens von allen drei Kaninchen wurde am 8. Dezember 1923 glattrasiert und am 8. Februar 1924 photographiert.

sich um drei Kaninchen, bei denen in gleicher Weise und im gleichen Umfange am 9. November 1923 die äußere Fläche des Ohrläppchens glattrasiert wurde. Am 22. Dezember wurde die photographische Aufnahme der drei Tiere vorgenommen. Abb. 1 stellt das Normaltier, Abb. 2 das ovariumlose und Abb. 3 das schilddrüsenlose Tier dar. Das Normaltier hatte schon recht weitgehend die Haare regeneriert; das ovariumlose erheblich weniger, das schilddrüsenlose praktisch gar nicht. Diese Versuchsreihe demonstriert recht anschaulich den großen Einfluß der Schilddrüse und den immerhin merklichen Einfluß des Ovariums auf das Wachstum der Haare. Der Einfluß, den die Schilddrüse auf das Wachstum der Haare hat, ist namentlich aus der Pathologie bekannt, und insofern die Schilddrüse ein Organ ist, welches von größter Bedeutung für die Wachstumsvorgänge überhaupt ist, ist die von mir beobachtete Erscheinung nur eine Teilerscheinung aus einem prinzipiell bekannten Gebiete. Sie war aber insofern des Studiums wert, als es sich bei allen drei Tieren um ausgewachsene Tiere handelt, so daß demzufolge es sich um den Einfluß auf Wachstumsvorgänge handelt, wo im landläufigen, wenn auch durchaus nicht richtigen Sinne das Wachstum abgeschlossen ist.

Ich habe noch eine andere Versuchsreihe angestellt, die in sehr eklatanter Weise den verschiedenen Einfluß der Drüsen mit innerer Sekretion auf das Wachstum der Haare offenbarte. Ich habe am 8. Dezember 1923 bei einem normalen Kaninchen, einem ovariumlosen und einem schilddrüsenlosen Kaninchen auf dem Rücken eine Stelle, die keinerlei äußeren Beschädigungen ausgesetzt ist, eine größere quadratische Stelle glattrasiert. Am 8. Februar 1924 wurden die photographischen Aufnahmen der Abb. 4, 5 und 6 gemacht. Sie zeigen in sehr deutlicher Weise, wie praktisch das normale Tier die Stelle fast völlig regeneriert hat. Die ursprünglich glattrasierte Stelle ist mit dichtem Haare besetzt und nur ein ganz leichter Schatten zeigt eine seichte Vertiefung. Schon viel deutlicher ist das Zurückbleiben bei dem ovariumlosen Tiere. So gut wie gar nicht hat das Wiederwachstum bei dem schilddrüsenlosen Tiere eingesetzt. Man erkennt noch deutlich die glattrasierte tiefliegende Hautfläche.

Es ist bekannt, daß bei der Wegnahme eines paarigen Organs im allgemeinen eine Art kompensatorischer Hypertrophie des zurückbleibenden Teiles eintritt. Diese kompensatorische Hypertrophie konnte zum Gegenstand der Untersuchung des Einflusses innersekretorischer Organe gemacht werden. Ein Problem, welches ich auf Anregung von Prof. *Asher* in Angriff genommen habe, war die Frage, ob ein geschlechtsgebundener Einfluß von Ovarium oder Hoden auf die Schilddrüse vorhanden sei und ob etwa die Beobachtung der kompensatorischen Hypertrophie ein Weg sei, um diesen genannten

Einfluß zu untersuchen. Es gibt eine Reihe von Erfahrungen aus der menschlichen Pathologie, welche die Vermutung — von mehr kann man nicht reden — nahelegen, daß das weibliche Geschlechtsorgan eine etwas intimere Beziehung zur Schilddrüse habe als das männliche Geschlechtsorgan.

Um diese etwaige Beziehung experimentell zu untersuchen, war der Plan meiner Arbeit folgendermaßen angeordnet: Es sollten Ratten möglichst des gleichen Wurfes, von denen die einen männlich, die anderen weiblich waren, teils in normalem Zustande, teils nach Kastrierung untersucht werden, nachdem bei allen in einer voraufgehenden Operation die halbe Schilddrüse entfernt worden war. Es standen mir zu diesem Zwecke 12 Ratten für eine erste Versuchsreihe zur Verfügung. Von diesen waren sechs männlich und sechs weiblich. Bei allen wurde die halbe, rechts gelegene Schilddrüse exstirpiert und das Gewicht dieser halben Schilddrüse auf einer genauen analytischen Wage festgestellt. Alle einschlägigen Versuchsdaten habe ich in Tabelle I mitgeteilt. Vier Männchen und vier Weibchen wurden kastriert, während je zwei Kontrolltiere in unversehrtem Zu-

*Tabelle I.*

| | | Ratte 1 ♂ | Ratte 2 ♂ | Ratte 3 ♂ | Ratte 4 ♂ | Ratte 5 ♂ | Ratte 6 ♂ | Ratte 7 ♀ | Ratte 8 ♀ | Ratte 9 ♀ | Ratte 10 ♀ | Ratte 11 ♀ | Ratte 12 ♀ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Operation | Halbe Schilddrüse (rechts) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Kastration (Hoden) | + | + | + | + | | | | | | | | |
| | Kastration (Ovarium) | | | | | | | | | + | + | + | + |
| | Datum | 21. XII. 1923 | 21. XII. 1923 | 21. XII. 1923 | 21. XII. 1923 | 21. XII. 1923 | 21. XII. 1923 | 28. XII. 1923 | 28. XII. 1923 | 28. XII. 1923 | 28. XII. 1923 | 28. XII. 1923 | 28. XII. 1923 |
| Gewicht der operativ entfernten halben Schilddrüsen in mg | | 12,4 | 10,0 | 11,0 | 12,0 | 9,8 | 10,0 | 9,4 | 12,0 | 10,0 | 11,8 | 12,0 | 9,8 |
| Gewicht der 32 Tage nach der Operation zurückbleibenden halben Schilddrüse in mg | | 17,2 | 15,0 | 16,2 | 16,8 | 15,0 | 14,6 | 14,0 | 15,6 | 20,0 | 19,8 | 23,0 | 20,0 |
| Zunahme d. Gewichtes d. zurückbleibenden halben Schilddrüse in mg | | 4,8 (38,7 Proz.) | 5,0 (50 Proz.) | 5,2 (47,3 Proz.) | 4,8 (40 Proz.) | 5,2 (53,1 Proz.) | 4,6 (46 Proz.) | 4,6 (49 Proz.) | 3,6 (30 Proz.) | 10,0 (100 Proz.) | 8,0 (67,8 Proz.) | 11,0 (91,7 Proz.) | 10,2 (104,1 Proz.) |

stande weiter beobachtet wurden. Genau 32 Tage nach der Operation wurden alle Tiere getötet und wiederum genau das Gewicht der zurückgebliebenen halben Schilddrüse festgestellt. Es zeigte sich, daß die vier normalen Ratten wie auch die vier kastrierten männlichen Ratten annähernd um gleich viel eine Gewichtszunahme der zurückbleibenden Schilddrüse erkennen ließen. Es handelt sich um Zahlenwerte, deren extremste Grenzwerte 30 und 50 Proz. sind. Ganz anders verhielten sich die vier kastrierten weiblichen Tiere. In jedem Falle waren die Zunahmen des Gewichtes der zurückgebliebenen halben Schilddrüse sehr viel größer als bei den weiblichen Tieren, die im Besitz ihres Ovariums waren, und den männlichen Tieren, gleichgültig, ob sie im Besitz der Hoden waren oder nicht. Die Gewichtszunahmen bewegen sich zwischen 67 und 104 Proz. Aus der hier gefundenen Tatsache lassen sich zwei Folgerungen ziehen:

1. Es besteht eine geschlechtsgebundene Beziehung zwischen Geschlechtsorgan und Schilddrüse, und zwar beim weiblichen Geschlecht.

2. Das Ovarium hat, wie man es ausdrücken kann, einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Schilddrüse. Fehlt das Ovarium, so vermag der zurückbleibende Rest der Schilddrüse stärker zu wachsen. Ob es sich um eine direkte oder eine indirekte Hemmung durch die normale Schilddrüse handelt, kann natürlich aus meinen Versuchen nicht hervorgehen, die Tatsache selbst ist aber in sehr anschaulicher Weise bewiesen.

Es fügte sich zufällig, daß während der Anstellung meiner Untersuchungen im physiologischen Institut von einer Hündin sechs gesunde junge Hunde geworfen wurden. Sobald dieselben der mütterlichen Milchdrüse entwöhnt waren, habe ich sie zum Versuch benutzt, indem ich bei allen die halbe Schilddrüse entfernte. Von den Tieren waren vier männliche und zwei weibliche. Drei männliche und ein weibliches habe ich außerdem kastriert. Alle Operationen fanden am 18. Januar 1924 statt. Die näheren Versuchsdaten teile ich in Tabelle II mit. Das Gewicht der entfernten halben Schilddrüse wurde genau festgestellt. 32 Tage später, am 20. Februar 1924, wurden alle Tiere, die gleichmäßig an Gewicht zugenommen hatten, getötet und die Schilddrüsen, die Nebennieren und die Thymusdrüse sorgfältig entnommen, um gewogen zu werden. Betrachtet man nur die Regeneration der Schilddrüse beim normalen kastrierten Weibchen, so ist der Unterschied der bei weitem größte in der ganzen Versuchsreihe, nämlich es beträgt die Gewichtszunahme beim normalen Weibchen nur 7,5 Proz., während beim ovariumlosen Weibchen das Gewicht der Schilddrüse um **141 Proz.** zugenommen hat, ein Zahlenwert, der irgend einen anderen der gesamten Versuchsreihe weit übertrifft. Dabei ist gerade bei diesem Tiere die gesamte Gewichtszunahme nicht größer als bei den anderen Tieren

und nur wenig größer als bei dem Kontrollweibchen, nämlich 5500 g gegenüber 4000 g. Es scheint demnach, zusammengehalten mit der früheren Versuchsreihe, auch hier wieder eine geschlechtsgebundene Beziehung zwischen Ovarium und Schilddrüse zutage zu treten. Wäre nicht die voraufgehende Versuchsreihe an Ratten so überzeugend ausgefallen, so würde man nur mit größter Vorsicht aus einem einzigen Versuchspaar einen derartigen Schluß ziehen dürfen.

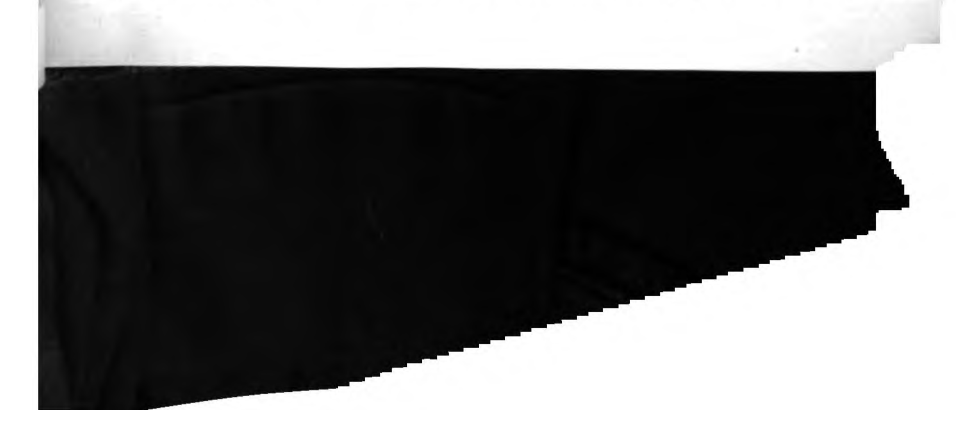
*Tabelle II.*

| | | Hund 1 ♀ | Hund 2 ♂ | Hund 3 ♂ | Hund 4 ♀ | Hund 5 ♂ | Hund 6 ♂ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Operation | Körpergewicht in g | 2500,0 | 1250,0 | 2000,0 | 2050,0 | 2270,0 | 1960,0 |
| | Datum | 18. I. 24 | 18. I. 24 | 18. I. 24 | 18. I. 24 | 18. I. 24 | 18. I. 24 |
| | Kastration (Hoden) | | | + | | + | + |
| | Kastration (Ovarium) | | | | + | | |
| | Halbe Schilddrüse (rechts) | + | + | + | + | + | + |
| | Gewicht d. operativ entfernten halben Schilddrüse in mg | 320 | 118 | 225 | 135 | 225 | 223 |
| Sektion | Körpergewicht in g | 2900,0 | 1850,0 | 2900,0 | 2600,0 | 3000,0 | 2920,0 |
| | Datum | 20. II. 24 | 20. II. 24 | 20. II. 24 | 20. II. 24 | 20. II. 24 | 20. II. 24 |
| | Gewicht d. Thymusdrüse i. mg | 1455 | 1935 | 3379 | 5087 | 5407 | 2286 |
| | Gewicht der beiden Nebennieren in mg | 572 | 467 | 545 | 486 | 427 | 490 |
| | Gewicht der bleibenden Schilddrüse in mg | 344 | 227 | 413 | 326 | 297 | 285 |
| | Zunahme d. Gew. d. zurückbleibenden Schilddrüse i. mg | 24 (7,5 Proz.) | 109 (92,4 Proz.) | 188 (83,6 Proz.) | 191 (141,5 Proz.) | 72 (32 Proz.) | 62 (27,8 Proz.) |

Was nun die kompensatorische Gewichtszunahme beim normalen und kastrierten Männchen anlangt, so sind die Zahlen nicht einheitlich. Das normale Männchen zeigt eine Gewichtszunahme der zurückbleibenden Schilddrüse von 92 Proz., die drei kastrierten von 83, 32 und 27 Proz. Bildet man Mittelwerte, so würde nach Wegfall der Hoden das Wachstum der Schilddrüse eher kleiner sein. Ich möchte aber nicht aus dem nicht hinreichend großen Versuchsmaterial diesen Schluß ziehen. Es bedarf dieser Gegenstand an Hunden noch einer weiteren Untersuchung. Aber die weibliche Geschlechtsgebundenheit der Beziehung zwischen Ovarium und Schilddrüse halte ich durch die Ergebnisse meiner Arbeit für gut gestützt.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Ein normales Kaninchen regeneriert innerhalb 4 Wochen einen experimentell gesetzten Haardefekt fast vollständig; ein ovariumloses



Kaninchen sehr viel weniger, ein schilddrüsenloses so gut wie gar nicht. Diese Angaben beziehen sich auf ausgewachsene Tiere.

2. Bei Ratten und Hunden konnte eine geschlechtsgebundene Beziehung zwischen Ovarium und Schilddrüse nachgewiesen werden, indem bei weiblichen Tieren nach Entfernung einer halben Schilddrüse die zurückbleibende Hälfte eine sehr viel größere Gewichtszunahme erfuhr als bei normalen weiblichen und normalen und kastrierten Männchen.

3. Es wurden Andeutungen dafür gefunden, daß bei männlichen Hunden der Wegfall der Hoden eher einen hemmenden Einfluß auf die Gewichtszunahme einer zurückbleibenden halben Schilddrüse besitzt.

# Neue Möglichkeiten der Acidimetrie, besonders zur Anwendung auf Eiweißkörper und deren Spaltungsprodukte[1]).

Von

**Paul Hirsch.**

(Mitteilung aus dem Universitätsinstitut für Nahrungsmittelchemie in Frankfurt a. M.)

*(Eingegangen am 12. März 1924.)*

Mit 7 Abbildungen im Text.

Man hat für die Eiweißkörper und deren Spaltungsprodukte noch kaum brauchbare analytische Methoden. Es soll hier untersucht werden, wie weit die Verfahren der Acidimetrie auf diese Körper anwendbar sind.

### A. Allgemeiner Teil.

Man nennt die üblichen Verfahren der Acidimetrie und Alkalimetrie auch Sättigungsverfahren. Man „sättigt“ bei ihnen eine freie Säure oder Base mittels Titerlösung ab, d. h. man fügt die äquivalente Menge Alkalilauge bzw. Mineralsäure zu. Den Endpunkt der Reaktion, den „Äquivalenzpunkt“, erkennt man in der Regel durch die Farbänderung eines zugefügten Indikators. Alle seitherigen Arbeiten über Acidimetrie behandeln nur solche Sättigungsverfahren. Diese sind naturgemäß nur dann anwendbar, wenn der Äquivalenzpunkt mit genügender Deutlichkeit beobachtet werden kann. Eine übersichtliche Darstellung der Theorie dieser Sättigungsverfahren stammt von *Niels Bjerrum*[2]).

Da für Acidimetrie und Alkalimetrie stets die gleichen Gesetze gelten, fasse ich die beiden Gebiete unter dem Namen „Acidimetrie“ zusammen.

Hier soll nun unternommen werden, die seitherige Beschränkung auf die Sättigungsverfahren aufzugeben, der Acidimetrie eine erweiterte

---

[1]) Dissertation Frankfurt a. M., Mai 1923.

[2]) Theorie der acidimetrischen und alkalimetrischen Titrierungen. Samml. chem. u. chem.-techn. Vortr. **21**. Stuttgart 1914.

Grundlage zu verschaffen und damit die Grenzen ihrer Anwendbarkeit zu erweitern.

Läßt man zu einer wässerigen Glykokollösung verdünnte Salzsäure fließen, so ändert sich die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung in *kontinuierlichem* Wachstum. Die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration läßt sich messend verfolgen mittels der potentiometrischen, elektrometrischen oder Gaskettenmethode, mittels der kolorimetrischen oder Indikatorenmethode und mittels der katalytischen Methode. Leicht zu messen ist auch die Menge der zugefügten „Titerlösung", d. h. Mineralsäure oder Alkalilauge. Für die Sättigungsverfahren kommen von den Zuständen, welche unsere Lösung bei dem allmählichen Zusatz der Salzsäure annimmt, nur zwei in Betracht: nämlich der Anfangszustand, bei welchem das Glykokoll noch keinerlei Salzbildung eingegangen ist, und außerdem der „Äquivalenzpunkt", bei dem gerade die der Glykokollmenge äquivalente Salzsäuremenge zugegen ist. Für uns sind jedoch auch sämtliche Zwischenstufen von Interesse. Zu ihrer Verfolgung sind einige eingehendere theoretische Untersuchungen erforderlich. Es wird sich zeigen, daß zwischen der Wasserstoffionenkonzentration, der Titermenge und der Menge des vorhandenen Glykokolls eine gesetzmäßige Beziehung besteht. Sind die ersten beiden Größen bekannt, so ist die Menge des Glykokolls festgelegt. Es handelt sich nun darum, diese Beziehung für alle interessierenden Fälle zu untersuchen und festzustellen, wie weit sich darauf acidimetrische Verfahren gründen lassen.

## *I. Einwertige Säuren und Basen.*

*Der Dissoziationsgrad.* $HS$ sei das Molekül einer einbasischen Säure, $S$ sei der Säurerest, das Säureradikal, und $S'$ sei ihr Anion.

$BOH$ sei eine einsäurige Base, $B$ das zugrunde liegende Radikal und $B^{\cdot}$ das Kation. Für Säure und Base charakteristisch sind die in wässeriger Lösung eintretenden Dissoziationen:

$$1.\ HS \rightleftharpoons \mathrm{H}^{\cdot} + S'.$$
$$2.\ BOH \rightleftharpoons B^{\cdot} + \mathrm{OH}'.$$

Hierüber besagt das Massenwirkungsgesetz:

$$\frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]\,.\,[S']}{[HS]} = K_s\,. \tag{Ia}$$

$$\frac{[\mathrm{OH}']\,.\,[B^{\cdot}]}{[BOH]} = K_b. \tag{Ib}$$

Wie üblich, bezeichnen stets Molekülformeln wie $HS$ oder $S'$ in einem mathematischen Ausdruck, wenn sie nicht in eckige Klammern gesetzt sind, Mengen, in Molen ausgedrückt. Molekülformeln in eckiger Klammer geben molare Konzentrationen an. $K_s$ und $K_b$ sind für gleichbleibende äußere Bedingungen und verdünnt wässerige Lösungen konstante Größen, sind jedoch abhängig von der Zusammensetzung des Lösungsmittels und von der Temperatur. Es werden zunächst gleichbleibende Bedingungen und verdünnte, rein wässerige Lösungen vorausgesetzt.

Die Gesamtmenge des in Lösung vorhandenen Radikals $S$ oder $B$ sei $G$ Mole. Man kann $G$ auch als die Gesamtmenge der ursprünglich undissoziiert gedachten Säure oder Base betrachten. $[G]$ gibt an, welches die molare Gesamtkonzentration des Radikals ist. Das Verhältnis $\frac{S'}{G}$ bzw. $\frac{B^{\cdot}}{G}$ ist dann der „Dissoziationsgrad"[1]) und sei mit $\alpha$ bezeichnet.

Die Abhängigkeit zwischen der Wasserstoffionenkonzentration $[H^{\cdot}]$ und dem Dissoziationsgrad $\alpha$ einer Säure ist leicht abzuleiten, wenn man annimmt, daß das Säureradikal $S$ nur als ungespaltenes Säuremolekül $HS$ und als Anion $S'$ vorkommt; wenn man also $HS + S' = G$ setzt, wie das bei *Michaelis* (l. c.) geschieht. Dann ist nämlich

$$\frac{1}{\alpha} = \frac{G}{S'} = \frac{S' + HS}{S'} = 1 + \frac{HS}{S'}.$$

Aus der Massenwirkungsbeziehung, Gleichung I, entnimmt man:

$$\frac{[HS]}{[S']} = \frac{[H^{\cdot}]}{K_s}.$$

Also ist:

$$\frac{1}{\alpha} = 1 + \frac{[H^{\cdot}]}{K_s}$$

oder

$$\alpha = \frac{1}{1 + \frac{[H^{\cdot}]}{K_s}}. \quad (\textit{Michaelis}, \text{ l. c.})$$

*$\alpha$ ist also nur von $[H^{\cdot}]$ und $K$, nicht jedoch von Menge und Konzentration der Säure $S$ abhängig.* Für konstantes $[H^{\cdot}]$ ist auch $\alpha$ konstant. Es ist wichtig, dies festzuhalten.

Für eine Base ist analog:

$$\alpha = \frac{1}{1 + \frac{[OH']}{K_b}}.$$

*Nebengleichgewichte; der Spaltungsgrad.* Die entwickelte Formel für $\alpha$ ist aber nicht richtig, wenn die zugrunde liegende Annahme nicht zutrifft, daß $HS + S' = G$; wenn das Radikal $S$ nicht nur als $S'$ und $HS$, sondern auch noch in anderer Form vorliegt; wenn also die Molekülarten $HS$ und $S'$ außer an dem Hauptgleichgewicht $HS \rightleftharpoons H^{\cdot} + S'$ noch an anderen Gleichgewichten, an „Nebengleichgewichten", beteiligt sind. Dieser Umstand tritt praktisch immer ein. Die Nebengleichgewichte lassen sich im allgemeinen recht glatt formulieren[2]).

Hier soll nur das Wichtigste der Nebengleichgewichte behandelt werden, die „Salzassoziation", die immer vorhanden ist. Ich verstehe darunter die Bildung undissoziierter Salze der zu untersuchenden Säure oder Base.

Die Hauptreaktion sei $HS \rightleftharpoons H^{\cdot} + S'$. Dann formuliert sich die Salzassoziation als $S' + Na^{\cdot} \rightleftharpoons NaS$. Dieses Gleichgewicht kann auch aufgefaßt werden als Dissoziationsgleichgewicht des Salzes $NaS$. In diesem Gleichgewicht spielt außer den bisher betrachteten Größen noch $[Na^{\cdot}]$ eine Rolle, die Konzentration einer gewissermaßen außerhalb der Hauptreaktion stehenden Molekülart.

[1]) *L. Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914.

[2]) Siehe Dissertation.

Als starker Elektrolyt folgt das Natriumsalz zwar nicht exakt dem einfachen Massenwirkungsgesetz. Für den vorliegenden Fall genügt dessen Anwendung jedoch vollständig[1]). Aus ihm folgt, daß

$$\frac{[\mathrm{Na}S]}{[S']} = \frac{[\mathrm{Na}^{\cdot}]}{K'}.$$

Für gleichbleibendes $[\mathrm{Na}^{\cdot}]$ bleibt also das Mengenverhältnis zwischen assoziiertem Salz Na$S$ und freiem Anion $S'$ konstant; ersteres ist ein konstanter Bruchteil des letzteren. Dieser Umstand soll noch in anderer Weise ausgedrückt werden. Die Summe $\mathrm{Na}S + S'$ sei mit $U$ bezeichnet; das ist der Anteil des Radikals $S$, der nicht als ungespaltene Säure $HS$ vorliegt; oder der insgesamt von der ursprünglich ungespalten gedachten Säure abgespalten oder abgesättigt ist. Ich bezeichne ihn als den „abgespaltenen Anteil". $\frac{S'}{U} = \beta$ ist der Dissoziationsgrad des Neutralsalzes Na$S$. Für dieses gilt also:

$$\frac{1}{\beta} = \frac{\mathrm{Na}S + S'}{S'}$$

oder, wenn man $\frac{\mathrm{Na}S}{S'} = \frac{[\mathrm{Na}^{\cdot}]}{K'}$ einsetzt:

$$\frac{1}{\beta} = 1 + \frac{[\mathrm{Na}^{\cdot}]}{K'}.$$

Also:

$$\beta = \frac{1}{1 + \frac{[\mathrm{Na}^{\cdot}]}{K'}}.$$

Hieraus folgt, daß $\beta$ außer von $K'$ nur von $[\mathrm{Na}^{\cdot}]$ abhängt. *Der Dissoziationsgrad $\beta$ des Neutralsalzes der Säure $HS$ bleibt also konstant, solange sich* $[\mathrm{Na}^{\cdot}]$ *nicht ändert.* Bei den salzsauren Salzen schwacher Basen gilt das sinngemäß Entsprechende für $[\mathrm{Cl}']$.

Diese Regel ist als Satz von *Arrhenius* bekannt.

Sowohl $S'$ wie Na$S$ halten Titernatronlauge gebunden, neutralisiert. Für den Titerverbrauch kommt also nicht $S'$ allein, sondern stets $U$ in Rechnung. Für die Acidimetrie ist also das Verhältnis $\frac{U}{G}$ von größerem Interesse als der Dissoziationsgrad $\alpha = \frac{S'}{G}$. Dieses Verhältnis $\frac{U}{G}$, der „abgespaltene" Bruchteil der Gesamtmenge $G$ des Radikals $S$, wird von nun ab als „Spaltungsgrad" $\gamma$ bezeichnet.

$$\gamma = \frac{U}{G} = \frac{U}{U + HS}; \qquad \frac{1}{\gamma} = 1 + \frac{HS}{U}.$$

Nun ist aber

$$U = \frac{S'}{\beta}, \text{ also } \frac{HS}{U} = \beta \frac{HS}{S'}.$$

Ferner ist

$$\frac{HS}{S'} = \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]}{K_s}, \text{ also } \frac{HS}{U} = \beta \cdot \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]}{K_s},$$

somit ist:

$$\gamma = \frac{1}{1 + \frac{\beta . [\mathrm{H}^{\cdot}]}{K_s}}.$$

---

[1]) *W. Nernst*, Theoretische Chemie.

$\gamma$ ist außer von $K_s$ und [H˙] noch von $\beta$ abhängig. Wenn $\beta$ konstant bleibt, besteht also nur mehr die Abhängigkeit von $K_s$ und [H˙]. Für ein bestimmtes gleichbleibendes [H˙] ist dann also $\gamma$ konstant. Setzt man:

$$k = \frac{K_s}{\beta}, \qquad \text{(II)}$$

so nimmt es folgende Gestalt an:

$$\gamma = \frac{1}{1 + \frac{[H^\cdot]}{k}} \quad \text{für die Säure} \qquad \text{(IIIa)}$$

und entsprechend

$$\gamma = \frac{1}{1 + \frac{[OH']}{k}} \quad \text{für die Base.} \qquad \text{(IIIb)}$$

$k$ kann man als die „Spaltungskonstante" des „Spaltungsgleichgewichtes" $HS \rightleftharpoons H^\cdot + U$ bezeichnen. Man kann auch hierzu eine Massenwirkungsgleichung schreiben:

$$[H^\cdot] . [U] = [HS] . k.$$

Die Beziehung zwischen $k$ und $K$ wird durch die obige Gleichung II angegeben. $K$ läßt sich also leicht aus $k$, bzw. umgekehrt, berechnen, wenn der Dissoziationsgrad $\beta$ bekannt ist. Dieser aber variiert bei den verschiedenen Na- bzw. Cl-Salzen nicht sehr und man kann ihn mit guter Annäherung für alle diese Salze dem Dissoziationsgrade von NaCl gleichsetzen.

Die Gleichung (III) besitzt die gleiche Form wie die zuvor für $\alpha$ abgeleitete.

Gleichung (III) beruht auf der Voraussetzung, daß $\beta$ konstant bleibt; nur so lange ist $k$ wirklich eine Konstante. Läßt sich diese Forderung erfüllen? Starke Salze, wie die der Natronlauge und die der Salzsäure, sind in den verdünnten Lösungen, die hier interessieren, nur in geringem Grade assoziiert. Bei n/10 Na- bzw. Cl-Konzentration etwa zu 15 Proz., bei steigender Verdünnung abnehmend. Die Änderungen in [Na] bzw. [Cl], die praktisch in Frage kommen, sind nur von geringem Einfluß auf $\beta$ bzw. $k$. Durch geeignete Versuchsanordnung kann man außerdem den störenden Einfluß ganz ausschalten. Zu bemerken ist ferner, daß die Salzassoziation nur bei solchen Gleichgewichtszuständen ins Gewicht fallen kann, für die der Spaltungsgrad $\gamma$ praktisch verschieden von 0 und 1 ist. Das ist leicht nachzuweisen.

*Die Spaltungskonstante gewinnt damit praktische Bedeutung.*

Zur Erklärung der beschriebenen Gleichgewichtsverhältnisse bedient man sich oft des Begriffes der „Hydrolyse" und verwendet eine eigene Hydrolysengleichung. Diese ist hier vollständig entbehrlich, denn Gleichung (III) beherrscht alle unter deren Bereich fallenden Zustände.

*Der Titerverbrauch.* Die fortschreitende Aufspaltung einer schwachen Säure oder Base geht Hand in Hand mit einem steigenden Verbrauch an Titerlauge — oder Säure. Es wird zunächst stets eine den vorhandenen $S'$- bzw. $B^\cdot$-Ionen äquivalente Menge Titersubstanz verbraucht. Diese Titermenge liefert die Na˙- bzw. Cl'-Ionen, die den $S'$- bzw. $B^\cdot$-Ionen das Gleichgewicht halten. Außerdem wird bei der Salzassoziation eine der gebildeten Salzmenge entsprechende Menge Titersubstanz verbraucht. Diese beiden Posten zusammen sollen als *„gebundene Titermenge"* $r$ bezeichnet werden. $r$ ist dem „abgespaltenen Anteil" äquivalent.

Außer dieser gebundenen Titermenge ist in den zu betrachtenden Systemen noch weitere Titersubstanz zugegen, die als „*freie Titermenge*“ $s$ bezeichnet werden soll. Diese freie Titermenge liefert durch elektrolytische Dissoziation nach dem Schema

$$HCl \rightleftharpoons H^{\cdot} + Cl' \quad \text{bzw.} \quad NaOH \rightleftharpoons Na^{\cdot} + OH'$$

die freien $H^{\cdot}$- bzw. $OH'$-Ionen, die für unsere Gleichgewichte von wesentlicher Bedeutung sind.

Wenn $[H^{\cdot}]$ und das Volumen $v$ der Lösung bekannt sind, läßt sich $s$ leicht berechnen. Nimmt man zunächst vollständige Spaltung der Titersalzsäure an, so ist $[H^{\cdot}]$ gleich der Konzentration der freien Säure. Das jeweilige Endvolumen der Flüssigkeit sei $v$, die in ihr enthaltene freie Salzsäure betrage $s$ ccm n/1. Dann ist also:

$$H^{\cdot} = s, \quad [H^{\cdot}] = \frac{s}{v} \quad \text{oder} \quad s = [H^{\cdot}] \,.\, v.$$

Bei größer werdender Konzentration der $Cl'$-Ionen kommt allmählich die Unvollständigkeit der Salzsäuredissoziation in Betracht. Der Dissoziationsgrad der Salzsäure bei den verschiedenen $Cl'$-Konzentrationen ist aus Angaben der Literatur zu erfahren; besonders aus Leitfähigkeitsangaben [1]. Er sei $\delta$; dann ist $H^{\cdot} = \delta \,.\, s$ und $[H^{\cdot}] = \delta \cdot \frac{s}{v}\cdot$ War die Molarkonzentration der Titerlösung nicht 1, sondern $n$, so ist

$$H^{\cdot} = n \,.\, \delta \,.\, s \quad \text{und} \quad [H^{\cdot}] = \frac{n \,.\, \delta \,.\, s}{v}.$$

Umgekehrt läßt sich aus bekanntem $[H^{\cdot}]$ die Menge $s$ der freien Säure leicht berechnen zu:

$$s = \frac{[H^{\cdot}] \,.\, v}{n \,.\, \delta_{HCl}}. \tag{IVa}$$

Für die freie Natronlauge gilt analog:

$$s = \frac{[OH'] \,.\, v}{n \,.\, \delta_{NaOH}}. \tag{IVb}$$

Die freie Titermenge ist unabhängig von der Menge der zu titrierenden Säure oder Base. Sie ist durch $[H^{\cdot}]$ und $v$ vollständig bestimmt.

Es ist noch zu bemerken, daß die Größe $s$ neben $r$ erst in stärker sauren oder alkalischen Lösungen ins Gewicht fällt.

Der tatsächliche Titerverbrauch $t$ setzt sich also zusammen aus der gebundenen und der freien Titermenge: $t = r + s$.

Diese Gleichung bedarf noch einer Ergänzung. Seither wurde angenommen, daß der Überschuß von $H^{\cdot}$ bzw. $OH'$ aus der freien Titersubstanz stammt; das ist nicht immer der Fall. Wird z. B. Essigsäure nur teilweise mit NaOH abgesättigt, so reagiert die erhaltene Lösung bekanntlich sauer, es ist ein Überschuß von $H^{\cdot}$ vorhanden. Hier stammen nun die $H^{\cdot}$-Ionen nicht aus der Titernatronlauge, sondern aus der Essigsäure selbst. Einem Teil der abgespaltenen Acetationen wird nicht durch $Na^{\cdot}$, sondern durch $H^{\cdot}$ das elektrostatische Gleichgewicht gehalten. Die Gesamttitermenge $t$ ist dieses Mal also kleiner als die Menge $U$ der abgespaltenen Essigsäure; und zwar um den Betrag der Acetationen, denen die freien $H^{\cdot}$-Ionen die Wage halten, also um den Betrag der freien $H^{\cdot}$-Ionen selbst, da ja alle

[1]) *Kohlrausch* und *Holborn*, Das Leitvermögen der Elektrolyte.

Mengen in Molen gemessen sind. Bezeichnen wir diesen Differenzbetrag wieder mit $s$ und nennen ihn wieder „freie Säure" und ist wieder die der gesamten aufgespaltenen Essigsäure äquivalente Titermenge $r$, so ist jetzt: $t = r - s$.

Genau so kann es sich bei allen anderen Säuren und Basen verhalten, die stark genug sind, um größere Mengen $H^{\cdot}$ oder $OH'$ selbst abzuspalten. Auch in diesen Fällen spielt natürlich $s$ erst in stärker sauren bzw. alkalischen Lösungen eine Rolle. $s$ läßt sich auch hier leicht aus $[H^{\cdot}]$ berechnen.

$$s = [H^{\cdot}] \cdot \frac{v}{n} \quad \text{bzw.} \quad s = [OH'] \cdot \frac{v}{n} \cdot \qquad (IV')$$

Wenn die freien $H^{\cdot}$ oder $OH'$ zum Teil von der Titersubstanz, zum Teil von der zu titrierenden Substanz herrühren, was auch möglich ist, wird die Berechnung von $s$ komplizierter. Auf diesen Fall soll jedoch hier nicht näher eingegangen werden.

Wir schreiben also jetzt allgemein:

$$t = r \pm s. \qquad (V)$$

Meist wird es vorteilhafter sein, *s direkt experimentell zu bestimmen*, anstatt es aus $[H^{\cdot}]$ zu berechnen. Das ist sehr einfach. Man bringt reines Wasser mittels Titerlösung auf die $[H^{\cdot}]$ des Hauptversuches und rechnet die hierbei gefundene freie Titermenge auf das richtige Volumen um. Man stellt mit anderen Worten einen Vergleichsversuch mit reinem Wasser an.

*Das molare Bindevermögen.* Die Gesamtmenge der fraglichen schwachen Säure oder Base sei wieder $G$. Dann soll das Verhältnis $r : G$ mit $\vartheta$ bezeichnet werden. Dies ist die pro Mol Substanz gebundene Titermenge, ebenfalls in Molen, und möge das „molare Bindevermögen" genannt werden.

Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß das molare Bindevermögen $\vartheta$ ebenso wie $\gamma$ eine eindeutige Funktion von $[H^{\cdot}]$ ist, solange keine störenden Nebengleichgewichte vorhanden sind. Für einwertige Säuren und Basen ist es direkt gleich dem Spaltungsgrad $\gamma$. Denn:

$$\vartheta = \frac{r}{G}, \quad \gamma = \frac{U}{G} \quad \text{und} \quad r = U, \quad \text{also} \quad \vartheta = \gamma.$$

Für die einwertigen Säuren und Basen kennen wir bereits die Beziehung zwischen $\gamma$ und $[H^{\cdot}]$ und somit auch die zwischen $\vartheta$ und $[H^{\cdot}]$.

*Für konstantes $[H^{\cdot}]$ ist auch $\vartheta$ konstant. In anderen Worten: Für gleichbleibendes $[H^{\cdot}]$ ist stets ein bestimmter, gleichbleibender Bruchteil der Säure oder Base abgespalten.* Ich möchte dies als das Grundgesetz der zu entwickelnden Theorie der Acidimetrie bezeichnen.

Die Verwendungsweise der $\vartheta$-Funktion für acidimetrische Bestimmungen ist nun ziemlich naheliegend. Die $\vartheta$-Funktion gestattet für beliebige $[H^{\cdot}]$ die zugehörigen Werte von $\vartheta$ anzugeben. Man bestimmt noch die entsprechenden $r$-Werte und erhält dann die Substanzmenge $G$ als $G = \frac{r}{\vartheta}$.

Bei Eiweißkörpern und deren Spaltungsprodukten, bei denen man kein Molekulargewicht kennt, beziehe ich die gebundene Titermenge auf den vorhandenen Stickstoff, so daß dann $\vartheta$ die pro Mol Stickstoff gebundenen Mole Titersubstanz angibt.

*Vorzüge der $\vartheta$-Funktion.* Wir haben den der direkten Messung zugänglichen Gesamttiterverbrauch $t$ in zwei verschiedenartige Teile, $r$ und $s$, zerlegt. Welchen Nutzen bringen die gewonnenen Ergebnisse für die Behandlung acidimetrischer Probleme?



*Ed. Salm*[1]) war der erste, der auf Grund seiner Indikatorenforschung zu dem Schluß kam, daß sich alle Säuren und Basen, auch sehr schwache, acidimetrisch titrieren lassen müßten; es käme nur darauf an, den „Äquivalenzpunkt" der betreffenden Substanz festzustellen und auf diesen mit Hilfe eines geeigneten Indikators zu titrieren. Unter dem Äquivalenzpunkt ist diejenige $[H^{\cdot}]$ zu verstehen, für welche der Titerverbrauch gerade der vorhandenen Substanzmenge äquivalent ist.

Die schon oben zitierte Abhandlung *N. Bjerrums* stellt eine Theorie dieses Äquivalenzpunktes dar. Dort wird sehr eingehend untersucht, unter welchen Bedingungen eine Titration auf den Äquivalenzpunkt möglich ist.

Es lag sodann nahe, die verbrauchte Titermenge — das ist der Gesamttiterverbrauch $t$ — in ihrer Abhängigkeit von $[H^{\cdot}]$ oder $[OH']$ zu verfolgen. Diese Betrachtungsweise ist von Verschiedenen eingeschlagen worden. Die gefundenen Abhängigkeiten zwischen Titerverbrauch $t$ und $[H^{\cdot}]$ hat man auch graphisch dargestellt. Ich sah solche Titrationskurven von *Thiel*[2]) und von *Kolthoff*[3]). Im Sinne der Betrachtungsweise dieser Autoren sei jetzt auch der Gesamttiterverbrauch auf ein Mol Substanz bezogen und dargestellt als $\tau = \frac{t}{G}$; wobei also $G$ die vorhandene Substanzmenge in Molen, $t$ den Gesamttiterverbrauch in Molen und $\tau$ den Titerverbrauch pro Mol Substanz angibt.

Es bietet nun wesentliche Vorteile, an Stelle dieser Funktion $\tau$ die hier eingeführte Funktion $\vartheta$ zu benutzen. Es wurde gezeigt, daß $\vartheta$ eine eindeutige Funktion von $[H^{\cdot}]$ ist, solange keine störenden Nebengleichgewichte auftreten. Es ist also von der Verdünnung unabhängig. $r = \vartheta \,.\, G$. $r$ ist bei festgelegtem $[H^{\cdot}]$ somit direkt proportional zu $G$, d. h. es ist ein direktes Maß der Gesamtmenge $G$. Mit $\tau$ bzw. $t$ ist es anders. Es ist $t = r \pm s$; man kann daher auch schreiben

$$\tau = \frac{r}{G} \pm \frac{s}{G}.$$

$t$ enthält außer $r$ noch den Summanden $s$, der nicht von $G$, aber nach Gleichung (IV) vom Volumen $v$ der Lösung abhängig ist. $t$ ist deshalb, im Gegensatz zu $r$, von der Verdünnung abhängig und nicht zu $G$ proportional. Dementsprechend enthält $\tau$ neben $\vartheta = \frac{r}{G}$ noch den Summanden $\frac{s}{G}$, der von $G$ und dem Volumen $v$ abhängig ist. $\tau$ ist daher selbst, im Gegensatz zu $\vartheta$, von $G$ und $v$ abhängig, also keine eindeutige Funktion von $[H^{\cdot}]$.

Wie schon angedeutet wurde, wird allerdings $s$ in der Nähe des Neutralpunktes, bei sehr kleinem $[H^{\cdot}]$ oder $[OH']$, ebenfalls sehr klein und verschwindet dann als Summand neben $r$. Mit $s$ verschwinden auch die Mängel, welche der Funktion $\tau$ anhaften und die Grenzen ihrer Anwendbarkeit bestimmen. Wo $s$ aber nicht zu vernachlässigen ist, kann man die Beziehung zwischen $\tau$ und $[H^{\cdot}]$ wegen der besprochenen Eigenschaften immer nur für eine bestimmte Konzentration der Substanz und der Titerlösung festlegen[4]). Dieser Umstand ist für die Acidimetrie höchst hinderlich, da ja bei acidimetrischen Bestimmungen die Substanz in unbekannter

---

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. **57**, 498, 1906.

[2]) *A. Thiel*, Sitzungsber. d. Ges. z. Förderung d. ges. Naturwiss. z. Marburg vom 13. November 1912.

[3]) Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem. **115**, 168.

[4]) Vgl. *J. M. Kolthoff*, l. c.

Menge und Konzentration vorliegt. Die Beziehung zwischen $\vartheta$ und [H˙] hingegen läßt sich unabhängig von der Konzentration der Substanz und der Normalität der Titerlösung aufstellen.

Noch eine wichtige Konsequenz ergibt sich für den Äquivalenzpunkt nach der alten Definition. Diese beruht auf der Voraussetzung, daß durch die Bedingung $\tau = 1$ für jede Säure und Base eine ganz bestimmte [H˙] gegeben sei. Der Äquivalenzpunkt wird daher samt dieser Voraussetzung hinfällig, wenn $s$ nicht vernachlässigt werden darf, d. h. man kann dann überhaupt keinen für verschiedene Konzentrationen gültigen Äquivalenzpunkt angeben.

Das Gesagte soll am Beispiel des Glykokolls demonstriert werden. *H. Lundén*[1]) gibt die basische Dissoziationskonstante des Glykokolls für 25° zu $2{,}60 \cdot 10^{-12}$ an. Ich habe nun für die Glykokollösungen, die in je 100 ccm Wasser der Reihe nach 1, 2, 5 und 10 Millimole der Aminosäure enthalten, berechnet, welche Menge n/10 Salzsäure zugesetzt werden muß, damit die Wasserstoffionenkonzentration $[H^{\cdot}] = 10^{-2}$ erreicht wird. (Dabei werden die zwei Annahmen gemacht, daß erstens die Spaltungskonstante des Glykokolls gleich der oben angegebenen Dissoziationskonstanten sei, und daß zweitens die Salzsäure vollständig dissoziiert sei.) Die gefundenen Zahlen sind in folgender Übersicht zusammengestellt:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $G$ in Millimol . . . . . . . | 10 | 5 | 2 | 1 |
| $r$ in Kubikzentimetern n/10 . | 70 | 35 | 14 | 7 |
| $t$ in Kubikzentimetern n/10 . | 88,89 | 50,0 | 26,67 | 18,89 |
| $\tau$ . . . . . . . . . . . . . | 0,889 | 1,0 | 1,333 | 1,889 |

Für $G = 5$ Millimol wird gerade $\tau = 1$. Für diesen Fall ist also der gewählte Titrationspunkt $[H^{\cdot}] = 10^{-2}$ gerade der „Äquivalenzpunkt". Man sieht jedoch, wie sehr sich $\tau$ mit $G$ ändert. Dasselbe Bild würde sich ergeben, wenn man $G$ festhielte und das Volumen $v$ variierte. Von einem allgemein gültigen Äquivalenzpunkt kann also nicht die Rede sein.

Die Bedeutung der $\vartheta$-Funktion für die Acidimetrie ist damit dargetan. Sie ermöglicht es, auch in stärker sauren oder alkalischen Lösungen acidimetrische Untersuchungen anzustellen. Die Überlegenheit der Anwendung von $\vartheta$ gegenüber der von $\tau$ wird besonders deutlich zutage treten, wenn zur graphischen Darstellung der Funktionen, zur Behandlung komplizierterer Fälle geschritten wird, und vor allem, wenn die Verhältnisse bei Gemischen untersucht werden. Die $\vartheta$-Funktionen liefern auch in den kompliziertesten Fällen klaren Überblick, während die $\tau$-Funktionen sehr bald unübersichtlich und gänzlich unbrauchbar werden.

*Messungen S. P. L. Sörensens am Glykokoll.* Eine Bestätigung für die dargestellte Auffassung über den Titerverbrauch liefert die Umrechnung einer von *S. P. L. Sörensen*[2]) am Glykokoll zu anderem Zwecke ausgeführten Reihe von Messungen. Diese zeichnen sich durch große Zuverlässigkeit aus. Aus *Sörensens* Zahlenangaben lassen sich für eine Reihe von [H˙]-Werten die zugehörigen Werte von $\vartheta$ berechnen. Es wurden Mischungen von n/10 Glykokollösung einerseits mit n/10 HCl, andererseits mit n/10 NaOH hergestellt und die [H˙] der Mischungen potentiometrisch bestimmt. Die folgende Tabelle gibt die Versuchsdaten und ihre Umrechnung an. Im ersten Stabe der Tabelle ist die Zusammensetzung der

[1]) *H. Lundén*, Affinitätsmessungen an schwachen Säuren und Basen. Samml. chem. u. chem.-techn. Vortr., Stuttgart 1908.

[2]) Diese Zeitschr. 21, 174.

Mischungen in Kubikzentimetern n/10 Lösungen angegeben. Der zweite bringt unter $p_H$ den negativen Logarithmus der gemessenen [H˙]. In der dritten Reihe ist die freie Titermenge $s$ angegeben, die nach Gleichung (IV) berechnet ist. $v$ ist immer 10 ccm, $n$ ist $^1/_{10}$. Die Werte für $\delta$ können aus der letzten Messung jeder der beiden Mischungsserien entnommen werden, aus der Messung an reiner n/10 HCl und der an reiner n/10 NaOH. Bei 100proz. Spaltung müßten die reinen Titerlösungen die $p_H$-Werte 1,00 bzw. 13,14 besitzen (die Dissoziationskonstante des Wassers zu 14,14 angenommen). Aus den gemessenen Werten $p_H = 1,038$ bzw. $p_H = 13,066$ ergibt sich:

$$\log \delta_{HCl} = 1,00 - 1,038 = -0,038.$$
$$\log \delta_{NaOH} = 13,066 - 13,14 = -0,074.$$

Im vierten Stabe der Tabelle ist die gebundene Säure $r$ verzeichnet. Sie ergibt sich als $r = t - s$. In der fünften Reihe steht $\vartheta$. Es ergibt sich als Quotient aus $r$ und der in der ersten Reihe angegebenen Gesamtmenge $G$ des Glykokolls. Die so gefundenen Werte von $\vartheta$ wurden in die Gleichung (III) für den Spaltungsgrad eingesetzt und daraus $k$ berechnet. Die gefundenen Werte für $\log k_s$ und $\log k_b$ sind in der sechsten Spalte der Tabelle angegeben. $k_s$ ist die Spaltungskonstante für die saure, $k_b$ die für die basische Gruppe des Glykokolls. Die Na˙- bzw. Cl′-Konzentrationen sind zwar in den verschiedenen Mischungen verschieden. Es zeigt sich jedoch, daß dies hier nicht von großer Bedeutung ist und das Bild nicht stört.

Die $k$-Werte zeigen eine schöne Konstanz. Nur bei den Endgliedern der Mischungsserien treten größere Abweichungen auf. Dies ist jedoch nicht anders zu erwarten, die Abweichungen liegen sämtlich innerhalb der Fehlergrenzen.

| $G$ | $t$ | $p_H$ | $s$ | $r$ | $\vartheta$ | $\log k_b + 12$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | A. Glykokoll-Salzsäuremischungen. | | | | |
| 10,0 Glykokoll | + 0,0 HCl | 6,106 | 0 | 0 | 0 | — |
| 9,9 „ | + 0,1 „ | 4,411 | 0,004 | 0,096 | 0,0097 | 0,26 |
| 9,75 „ | + 0,25 „ | 3,991 | 0,011 | 0,239 | 0,0245 | 0,25 |
| 9,5 „ | + 0,5 „ | 3,679 | 0,023 | 0,477 | 0,0502 | 0,26 |
| 9,0 „ | + 1,0 „ | 3,341 | 0,050 | 0,950 | 0,1056 | 0,27 |
| 8,0 „ | + 2,0 „ | 2,922 | 0,131 | 1,869 | 0,234 | 0,26 |
| 7,0 „ | + 3,0 „ | 2,607 | 0,270 | 2,730 | 0,390 | 0,28 |
| 6,0 „ | + 4,0 „ | 2,279 | 0,574 | 3,426 | 0,571 | 0,27 |
| 5,0 „ | + 5,0 „ | 1,932 | 1,276 | 3,724 | 0,745 | 0,25 |
| 4,0 „ | + 6,0 „ | 1,645 | 2,472 | 3,528 | 0,882 | 0,38 |
| 0,0 „ | + 10,0 „ | 1,038 | 10,00 | 0,000 | — | — |
| | | B. Glykokoll-Natronlaugemischungen. | | | | $\log k_s + 10$ |
| 10,0 Glykokoll | + 0,0 NaOH | 6,106 | 0 | 0 | 0 | — |
| 9,9 „ | + 0,1 „ | 7,809 | 0 | 0,10 | 0,010 | 0,20 |
| 9,75 „ | + 0,25 „ | 8,237 | 0 | 0,25 | 0,026 | 0,18 |
| 9,5 „ | + 0,5 „ | 8,575 | 0 | 0,50 | 0,053 | 0,17 |
| 9,0 „ | + 1,0 „ | 8,929 | 0,0007 | 1,00 | 0.111 | 0,17 |
| 8,0 „ | + 2,0 „ | 9,364 | 0,002 | 2,00 | 0,250 | 0,16 |
| 7,0 „ | + 3,0 „ | 9,714 | 0,004 | 3,00 | 0,428 | 0,16 |
| 6,0 „ | + 4,0 „ | 10,140 | 0,012 | 3,99 | 0,665 | 0,16 |
| 5,5 „ | + 4,5 „ | 10,482 | 0,026 | 4,47 | 0,813 | 0,16 |
| 5,1 „ | + 4,9 „ | 11,067 | 0,101 | 4,80 | 0,941 | 0,15 |
| 5,0 „ | + 5,0 „ | 11,305 | 0,174 | 4,83 | 0,964 | 0,14 |
| 4,9 „ | + 5,1 „ | 11,565 | 0,316 | 4,78 | 0,97 | 0,05 |
| 0,0 „ | + 10,0 „ | 13,066 | 10,000 | 0,00 | — | — |

Die Versuchsreihe *Sörensens* bestätigt nach dieser Umrechnung also die hier entwickelten Gesichtspunkte und Formeln.

*Die $\vartheta$-Kurve.* Es ist von Vorteil, die Abhängigkeit des molaren Bindevermögens $\vartheta$ von der Wasserstoffionenkonzentration graphisch darzustellen. Nach *S. P. L. Sörensen*[1]) pflegt man mit den Logarithmen der Wasserstoffionenkonzentration zu rechnen. Man nennt den negativen Logarithmus von $[H^{\cdot}]$ Wasserstoffzahl oder Wasserstoffstufe und bezeichnet ihn mit $p_H$; entsprechend ist $p_{OH} = -\log[OH']$. *L. Michaelis*[2]) benutzt nach dem Muster *Sörensens* ebenfalls $p_H$ als Abszisse für die graphische Darstellung von Dissoziationsverhältnissen. Wir werden hier zur Darstellung der $\vartheta$-Funktionen ebenso verfahren. Es wurde schon gesagt, daß für die einwertigen · äuren und Basen $\vartheta = \gamma$ ist. Die mathematische Form der $\gamma$-Funktion ist der der einfachen $\alpha$-Funktion genau nachgebildet. Das graphische Bild der $\vartheta$-Funktionen für einwertige Säuren und Basen ist demnach das gleiche, wie das von *Michaelis* für den Dissoziationsgrad $\alpha$ gefundene.

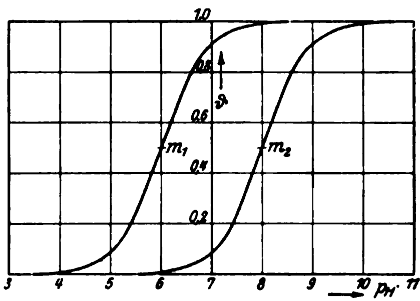



Abb. 1. Die $\vartheta$-Kurven der zwei einbasischen Säuren mit $m = 6$ und $m = 8$.

Ein ausgezeichneter Punkt der Kurve ist der, für den $\vartheta = \frac{1}{2}$ wird. Nach Gleichung (III) ist für eine Säure:

$$\vartheta = \gamma = \frac{1}{1 + \frac{[H^{\cdot}]}{k}}.$$

Für diesen Punkt also:

$$\frac{1}{1 + \frac{[H^{\cdot}]}{k}} = \frac{1}{2}, \quad 1 + \frac{[H^{\cdot}]}{k} = 2.$$

$$[H^{\cdot}] = k \qquad \text{oder} \qquad p_H = -\log k.$$

*Michaelis* zeigt, daß in diesem Punkte die Kurve ihre größte Neigung aufweist. Für eine einwertige Base wird $\vartheta = \frac{1}{2}$, wenn $[OH'] = k$ oder $p_{OH} = -\log k$.

Da gleicherweise für Säuren und Basen die Wasserstoffstufen als Bezugssystem benutzt werden sollen, muß $p_{OH}$ durch $p_H$ ausgedrückt werden. Dies geschieht mit Hilfe der Gleichung für das Wassergleichgewicht:

$$[H^{\cdot}] \cdot [OH'] = k_w. \qquad \text{(VI)}$$

$k_w$ ist von der Temperatur abhängig. Meine Untersuchungen sind bei 18° ausgeführt. Nach *Sörensen* ist für diese Temperatur $k_w = 10^{-14,14}$. Also ist bei 18°:

$$p_H = 14{,}14 - p_{OH}.$$

Für Basen wird demnach $\vartheta = \frac{1}{2}$ für $p_H = \log k - \log k_w$.

[1]) Diese Zeitschr. 21, 138, 1909.

[2]) l. c.

Die Abszisse dieses Punktes $\vartheta = \frac{1}{2}$ sei jeweils mit $m$ bezeichnet. Es ist dann also

$$\text{für eine Säure: } m = -\log k;$$
$$\text{„ „ Base: } m = +\log k - \log k_w.$$

Die Größen $m$ geben einen gleichheitlicheren und übersichtlicheren Aufschluß über die Kurven der Säuren und Basen als die Größen $k$. Mit ihrer Bedeutung werden wir uns noch später beschäftigen.

Seit *Sörensen*, der fand, daß sich die Versuchsdaten seiner Enzymstudien viel übersichtlicher bei Verwendung von $p_H$ als Abszisse darstellten, als bei Verwendung von [H˙] direkt, hat sich diese Darstellungsweise allgemein eingebürgert. Die gebräuchlichen Meßmethoden erscheinen nämlich viel besser der Bestimmung von $p_H$ als der von [H˙] angepaßt. Vor allem aber stellen sich die Spaltungs- bzw. Dissoziationsverhältnisse allgemein viel einfacher dar, wenn man $p_H$ statt [H˙] als Bezugsgröße wählt. Eine exakte Begründung dieser Tatsache ist mir in der Literatur nicht begegnet. In meiner Dissertation habe ich gezeigt, wie sich die Vorzüge dieser logarithmischen Darstellungsweise aus der mathematischen Gestalt der Gleichung (III) herleiten. Hier sollen diese Vorzüge nur kurz beschrieben werden.

$m$ gibt den Punkt der Kurve an, für den $\vartheta = \frac{1}{2}$ wird. Dieser Kurvenpunkt ist ein Symmetriepunkt. Er teilt die Kurve in zwei kongruente Äste. Man kann ihn deshalb als Mittelpunkt bezeichnen. Wenn man in $p_H$ von $m$ aus nach oben und nach unten um die gleiche Strecke weiterschreitet, ändert sich auch $\vartheta$ um gleiche Beträge. Die hierdurch zum Ausdruck gebrachte Symmetrie der Kurve besagt, daß die Zähleinheiten des Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration auch für den Spaltungsgrad gleichwertige Schritte darstellen. Dies ist ein Hauptgrund für die Eignung des gewählten Bezugssystems.

Die $\vartheta$-Kurven zeigen noch eine wichtige Eigenschaft. Die Kurven für verschiedene Werte von $k$ sind nämlich alle einander kongruent und nur in der Richtung der $p_H$-Achse zueinander parallel verschoben. Der Abstand ihrer Mittelpunkte und ebenso der Abstand solcher Kurvenpunkte, die einem bestimmten $\vartheta$-Wert entsprechen, ist gleich der Differenz der Logarithmen der betreffenden $k$-Werte,

$$\text{nämlich } \log k_1 - \log k_2 = m_2 - m_1.$$

Diese Differenz gibt also den Betrag an, um welchen die Kurven zueinander verschoben erscheinen. Die Kurven der einbasischen Säuren sind untereinander parallel und verlaufen von links unten nach rechts oben, d. h. $\vartheta$ wächst mit steigendem $p_H$. Die Kurven der einsäurigen Basen sind ebenfalls unter sich parallel und verlaufen von links oben nach rechts unten. $\vartheta$ fällt bei ihnen mit steigendem $p_H$.

Alle diese einfachen Kurven können mit einer einzigen Schablone gezeichnet werden, wenn man nur je einen Punkt der Kurve kennt. Ist $k$ bekannt, so kennt man auch $m$ und damit diesen einen Kurvenpunkt.

Der mittlere Teil der Kurve etwa von $\vartheta = 0{,}2$ bis $\vartheta = 0{,}8$ verläuft nahezu geradlinig und besitzt die größte Neigung zur Abszissenachse. Während $\vartheta$ von 0,2 auf 0,8 wächst, ändert sich $p_H$ um 1,204. Nach beiden Seiten nimmt die Neigung der Kurve ab. Sie krümmt sich, um sich asymptotisch den Geraden $\vartheta = 0$ und $\vartheta = 1$ zu nähern.

$\vartheta$ unterscheidet sich von 0 und 1 praktisch nur innerhalb einer beschränkten Zone, der „Pufferzone". Nur innerhalb dieser Zone finden merkbare $\vartheta$-Änderungen und „Pufferwirkungen" statt.

Der beschriebene einfache Kurventypus soll kurz als $\gamma$-Kurve bezeichnet werden.

*Bestimmung der Spaltungskonstanten.* Die ganze $\gamma$-Kurve läßt sich also auf bequemste Weise zeichnen, wenn $k$ und damit $m$ bekannt ist. Zur Bestimmung von $k$ kann die folgende einfache Methode dienen. Man mische eine bekannte Menge der betreffenden Säure oder Base mit einer gemessenen Menge Titerlösung, $t$, und bestimme $p_H$. $t$ muß nur von solcher Größe sein, daß sich ein Punkt der Pufferzone einstellt. Nach Abzug von $s$ [Gleichung (IV)] erhält man $r$ und $\vartheta = \frac{r}{G}$. Aus Gleichung [III] berechnet sich dann $k$ als:

$$k = \frac{[H^{\cdot}]}{\frac{1}{\vartheta} - 1}.$$

Für Basen ist in dieser Formel $[OH']$ statt $[H^{\cdot}]$ zu setzen.

Zum Zeichnen der Kurven braucht man nur die Größe $m$. Man kann auch $m$ direkt aus $\vartheta$ und $p_H$ berechnen. Man erhält aus obiger Formel:

$$\text{Für eine Säure: } m = p_H + \log\left(\frac{1}{\vartheta} - 1\right). \quad \text{(VIIa)}$$

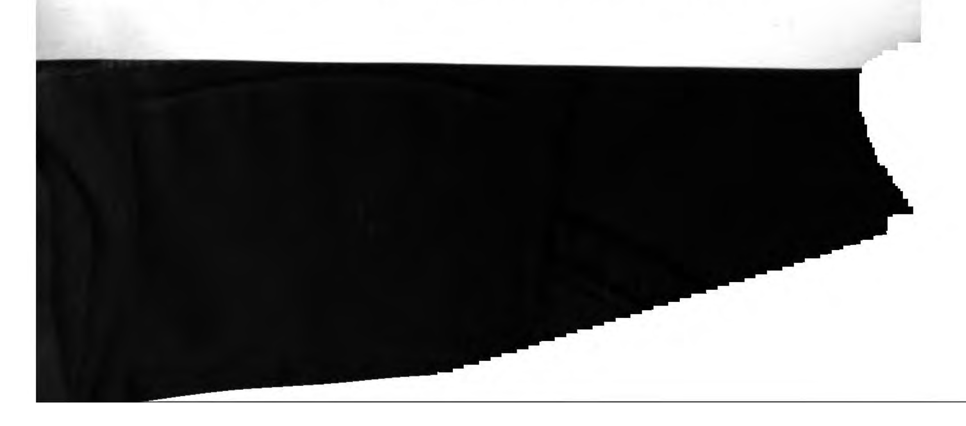
$$\text{Für eine Base: } m = p_H - \log\left(\frac{1}{\vartheta} - 1\right). \quad \text{(VIIb)}$$

Es läßt sich zeigen, daß die Messungsfehler, mit denen $\vartheta$ behaftet ist, das Resultat am wenigsten beeinflussen, wenn $\vartheta = 1/2$ ist. Man wählt deshalb im allgemeinen die Mengenverhältnisse zur Bestimmung der Konstanten am günstigsten so, daß $\vartheta$ ungefähr gleich $1/2$ wird.

Über die Dissoziationskonstanten vieler Substanzen liegen in der Literatur Angaben vor. Eine zusammenfassende Abhandlung über „Affinitätsmessungen an schwachen Säuren und Basen", die schon zitiert wurde, gibt *H. Lundén.* Er beschreibt dort die Anwendung verschiedener physiko-chemischer Methoden zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten und gibt Grenzen für die Anwendbarkeit der einzelnen Methoden an. Der Messung unterworfen werden dort entweder die Lösungen der freien Substanzen oder die ihrer reinen Salze, die in der Lösung hydrolytische Spaltung erleiden. Nach unserer Bezeichnungsweise wird dort also entweder $\tau = 0$ oder $\tau = 1$ gewählt. Für das oben beschriebene Verfahren, das meines Wissens noch nirgends angegeben worden ist[1]), können aber ganz beliebige Absättigungszustände der betreffenden Substanz zur Messung herangezogen werden. Man kann dabei stets denjenigen Wert von $\vartheta$ wählen, der für die Genauigkeit der Bestimmung am günstigsten ist.

Die Brauchbarkeit der Gaskettenmessung zur Bestimmung von Konstanten erstreckt sich etwa über alle Konstanten, deren Größe zwischen $10^{-1}$

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Bei Durchsicht der unserem Institut von Herrn Prof. *J. M. Kolthoff*, Utrecht, liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellten Sonderabdrucke seiner Veröffentlichungen fand ich jetzt, daß er das Prinzip dieses Verfahrens ebenfalls schon angewandt hat. Es handelt sich um die in französischer Sprache abgefaßte Arbeit: „L'indication des fonctions acide et basique et leur détermination quantitative". — Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas **39**, 673, 1920.



und $10^{-13}$ liegt. Und zwar können diese alle, wenn keine besonderen Störungen eintreten, mit ziemlich der gleichen Genauigkeit bestimmt werden.

### *II. Mehrere saure oder basische Gruppen im Molekül.*

Die einfache $\gamma$-Gleichung gilt nur für einwertige Säuren und Basen. Für mehrwertige ist die Beziehung zwischen $\vartheta$ und [H˙] ebenfalls eindeutig, nimmt aber eine andere Gestalt an.

Man kann die $\vartheta$-Kurven irgendwelcher Substanzen leicht empirisch ermitteln. Zu diesem Zwecke braucht man nur gemessene Mengen der betreffenden Substanz mit verschiedenen, gemessenen Mengen Titerlösung zu versetzen und $p_H$ zu messen. Man berechnet wie sonst $\vartheta$. Trägt man für eine genügende Anzahl von $p_H$-Werten die zugehörigen $\vartheta$-Werte in ein Koordinatensystem ein, so kann man die gewonnenen Punkte zur Kurve ergänzen.

*Michaelis* (l. c.) stellt Dissoziationsgrade auch für die mehrbasischen Säuren auf, nämlich $\alpha_1 = \frac{HS'}{G}$ und $\alpha_2 = \frac{S''}{G}$. Er leitet deren Beziehung zu [H˙], wieder unter Vernachlässigung der Salzassoziation, ab. Er stellt auch die Beziehung des Verhältnisses $\frac{H_2S}{G}$, das er den Dissoziationsrest $\varrho$ nennt, zu [H˙] fest. Er leitet diese $\alpha$- und $\varrho$-Funktionen auch für den einfachen Ampholyten ab.

Die Begriffe und Ergebnisse, die bei der Betrachtung der einwertigen Säuren und Basen gewonnen wurden, ermöglichen nun auch die Aufstellung der $\vartheta$-Funktionen komplizierterer Substanzen. Ihre Ableitungen, die in der Dissertation systematisch durchgeführt sind, sollen hier nur angedeutet werden.

*Die zweibasische Säure.* Es wird dort zuerst die $\vartheta$-Funktion der zweibasischen Säure abgeleitet. Hierbei sind zwei Fälle zu unterscheiden; der einfachere einer symmetrischen und der einer unsymmetrischen zweibasischen Säure. Unter einer symmetrischen zweibasischen Säure wird eine solche verstanden, deren beide saure Gruppen vollständig gleichwertig sind, im Molekül die gleiche Stellung aufweisen. Dies ist z. B. bei der Oxalsäure und der Bernsteinsäure der Fall. Unsymmetrisch ist beispielsweise die Asparaginsäure, bei welcher die der Aminogruppe benachbarte COOH-Gruppe von der anderen unterschieden werden muß.

Für den spezielleren Fall der symmetrischen Säure gilt folgendes Reaktionsschema:

$$1.\ H_2S \rightleftharpoons HS' + H^{\cdot}. \qquad 2.\ HS' + Na^{\cdot} \rightleftharpoons HSNa.$$
$$3.\ HS' \rightleftharpoons S'' + H^{\cdot}. \qquad 4.\ S'' + Na^{\cdot} \rightleftharpoons NaS'.$$
$$5.\ HSNa \rightleftharpoons NaS' + H^{\cdot}. \qquad 6.\ NaS' + Na^{\cdot} \rightleftharpoons Na_2S.$$

Für den Fall der unsymmetrischen Säure ist die Zahl der Molekülarten größer und der Mechanismus der ineinandergreifenden Reaktionen komplizierter. Es muß da z. B. zwischen zwei verschiedenen Molekülarten $HS'$ unterschieden werden, ebenso zwischen zwei Arten $HS$Na und Na$S'$. Die Ableitungen werden zunächst für die symmetrische Säure durchgeführt. Dann wird nachgewiesen, daß die Ergebnisse unverändert auch für die unsymmetrische Säure Gültigkeit besitzen.

Es wird gezeigt, daß sich die sämtlichen für die zweibasische Säure in Betracht kommenden Reaktionen exakt in zwei „Spaltungsgleichgewichten" zusammenfassen lassen. Diese werden formuliert als:

$$1.\ H_2S \rightleftharpoons \mathrm{H}^{\cdot} + U_1 \quad \text{bzw.} \quad \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}] \cdot [U_1]}{[H_2\mathrm{S}]} = k_1.$$

$$2.\ U_1 \rightleftharpoons \mathrm{H}^{\cdot} + U_2 \quad \text{bzw.} \quad \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}] \cdot [U_2]}{[U_1]} = k_2.$$

$U_1$ ist der „einwertig abgespaltene", $U_2$ der „zweiwertig abgespaltene" Anteil der Säure.

Sodann werden für die zweiwertige Säure zwei „Spaltungsgrade" aufgestellt, einer für den einwertig und einer für den zweiwertig auftretenden Anteil der Säure:

$$\gamma_1 = \frac{U_1}{G} \quad \text{und} \quad \gamma_2 = \frac{U_2}{G}.$$

Es ist weiterhin $\vartheta = \gamma_1 + 2\,\gamma_2$, woraus sich schließlich die Gleichung ergibt:

$$\vartheta = \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]k_1 + 2\,k_1 k_2}{k_1 k_2 + [\mathrm{H}^{\cdot}]k_2 + [\mathrm{H}^{\cdot}]^2}. \qquad \text{(VIII)}$$

Für die zweibasische Säure ist also $\vartheta$ durch $[\mathrm{H}^{\cdot}]$ und jetzt *zwei* Spaltungskonstanten eindeutig bestimmt. Es variiert zwischen den Werten 0 und 2.

*Die Gestalt der Kurve* zu Gleichung (VIII) ist abhängig von dem Verhältnis der beiden Konstanten $k_1 : k_2$.

Bei einwertigen Säuren und Basen berechneten wir die Größe $m$ nach den Formeln:

$$\text{für Säuren } m = -\log k,$$
$$\text{für Basen } m = +\log k - \log k_w.$$

Nach den gleichen Formeln kann man bei mehrwertigen Säuren und Basen ebenfalls $m$-Werte berechnen, über deren eigentlichen Sinn später noch gesprochen werden wird. Man kann nun sagen, daß die Gestalt der Kurven von der Differenz $m_2 - m_1$ abhängt.

Zunächst sei $m_2 - m_1$ groß, etwa gleich 5. Dann verläuft mit wachsendem $p_\mathrm{H}$ zunächst die einwertige Spaltung praktisch vollständig, bevor die zweiwertige einsetzt. Man kann leicht zeigen, daß sich Gleichung (VIII) für diesen Teil der Kurve vereinfacht zu der einfachen alten Gleichung (III):

$$\vartheta = \gamma = \frac{1}{1 + \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]}{k}}.$$

Wächst $p_\mathrm{H}$ weiter, dann beginnt später erst die Abspaltung des zweiwertigen Anteils. Weil dann die erste Spaltung bereits praktisch vollständig geworden ist, geschieht auch diese zweite Spaltung nach derselben einfachen Gleichung. Man kann dies auch aus Gleichung (VIII) an Hand von Zahlenbeispielen ersehen.

Wenn die zwei Konstanten sehr verschieden voneinander sind, besteht also die $\vartheta$-Kurve der zweibasischen Säure aus zwei aufeinanderfolgenden einfachen $\gamma$-Kurven, die sich mit der alten Schablone zeichnen lassen (Abb. 2a). Die Mittelpunkte der beiden Kurventeile ergeben sich, wie früher, als $m_1 = -\log k_1$ und $m_2 = -\log k_2$. Zwischen den beiden Teilen der Kurve befindet sich eine Kurvenstrecke, die praktisch parallel zur $p_\mathrm{H}$-Achse verläuft und sich der Geraden $\vartheta = 1$ eng anlegt.

Wählt man nun andere zweibasische Säuren, bei denen der Reihe nach das Verhältnis $k_1 : k_2$ immer kleiner wird, so rücken die beiden Hälften der Kurve immer näher zusammen, bis sie miteinander verschmelzen (Abb. 2b). Dabei wird, von den mittleren, aneinander anstoßenden Teilen anfangend, nach außen fortschreitend, die Gestalt der einfachen $\gamma$-Kurve verändert, so daß die Schablone nicht mehr auf sie paßt.

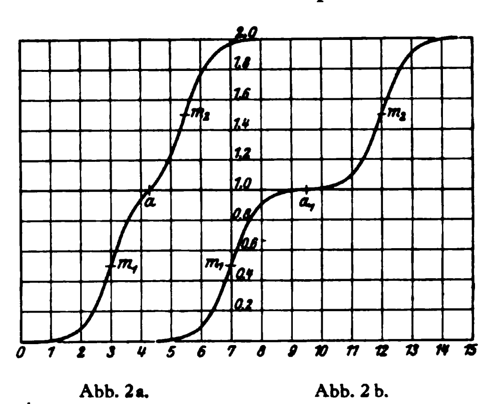



Abb. 2a. Abb. 2b.

Man kann leicht ausrechnen, für welchen $p_H$-Bereich die Spaltung einer sauren Gruppe ins Gewicht fällt für den Verlauf der Abspaltung einer schwächeren oder stärkeren sauren Gruppe des gleichen Moleküls. Diese Betrachtung ist von Bedeutung für das Zeichnen der Kurven und für die Bestimmung der Konstanten.

Es sei einmal angenommen, solche Größen dürften vernachlässigt werden, die $\vartheta$ um weniger als 0,001, d. i. 1 Prom. verändern. Man kann die Grenze natürlich nach Belieben auch anders ziehen. Irgend eine Spaltung kann dann also als praktisch noch nicht eingetreten bzw. als praktisch vollständig angesehen werden, wenn für sie

$$\frac{1}{1 + \frac{[H^\cdot]}{k}} < 0{,}001 \quad \text{bzw.} \quad \frac{1}{1 + \frac{[H^\cdot]}{k}} > 0{,}999.$$

Dies ist der Fall für:

$$p_H < -\log k - 3 \quad \text{und} \quad p_H > -\log k + 3;$$

oder

$$p_H < m - 3 \quad \text{und} \quad p_H > m + 3.$$

Zusammenfassend kann man sagen, daß die betreffende Spaltung nicht vernachlässigt werden darf, wenn sich $p_H$ innerhalb folgender Grenzen bewegt:

$$m - 3 < p_H < m + 3.$$

Wählt man als Genauigkeitsgrenze 1 Proz. statt 1 Prom., so wird hieraus:

$$m - 2 < p_H < m + 2.$$

Es sei z. B. die Kurve für die Säure zu zeichnen, deren $m$-Werte $m_1 = 6$ und $m_2 = 9$ betragen. Es soll entschieden werden, wie weit die Schablone der einfachen $\gamma$-Kurve benutzt werden kann. Für $p_H = 9 - 2 = 7$ wird nach dem obigen durch die zweite Spaltung 1 Proz. von $\gamma_1$ erfaßt. $\gamma_1$ wäre

für dieses $p_H$ nach der einfachen $\gamma$-Gleichung (III) etwa 0,9. Dieser Wert 0,9 wäre also um 0,009 zu hoch. Würde diese Genauigkeit — auf 0,9 Proz. — genügen, so dürfte man also die $\vartheta$-Kurve bis zu $p_H = 7$ und ebenso wieder von $p_H = 6 + 2 = 8$ an mit der Schablone zeichnen; also nur nicht zwischen $p_H = 7$ und $p_H = 8$. Wird größere Genauigkeit gewünscht, so läßt sich diese Betrachtung leicht auch auf andere Werte ausdehnen.

Man kann sagen, daß sich die beiden Teile der Kurve bzw. die beiden aufeinanderfolgenden Spaltungen gegenseitig nicht beeinflussen, wenn etwa $m_2 - m_1$ größer ist als 4.

*Die Bestimmung der beiden Konstanten* einer zweibasischen Säure kann auf verschiedene Weise geschehen. Man kann, wie bei der einbasischen Säure, bei beliebigem $\vartheta$ die $[H^\cdot]$ bestimmen. Nur muß man jetzt zwei Messungen vornehmen, weil für die zwei Unbekannten $k_1$ und $k_2$ zwei Bestimmungsgleichungen nötig sind. Man wird $\vartheta$ einmal etwa $= 1/2$ und dann etwa $= 3/2$ wählen. Durch Einsetzen der beobachteten Werte für $\vartheta$ und $p_H$ in Gleichung (VIII) erhält man die beiden Bestimmungsgleichungen. Einfacher gestaltet sich die Rechnung, wenn man zur Bestimmung jeder der Konstanten eine Stelle der Kurve wählen kann, an welcher der Einfluß keiner anderen Konstanten ins Gewicht fällt. Man kann dann zur Ermittlung jeder der Konstanten einfach Gleichung (III) anwenden, wobei jeweils eine Messung genügt.

*Mehrbasische Säuren* können ganz entsprechend wie die zweibasischen behandelt werden. Auch hier können die Konstanten der einzelnen sauren Gruppen mehr oder weniger voneinander verschieden, sein, und dementsprechend können Teile der $\vartheta$-Kurve wieder der einfachen $\gamma$-Kurve entnommen sein oder die Kurventeile für verschiedene Gruppen miteinander verschmelzen. Für Kurventeile, die außerhalb des Einflußbereiches der Nachbargruppen liegen, kann die Säure wieder wie eine einbasische behandelt werden. Bei der Phosphorsäure z. B. liegen die Konstanten für die drei verschiedenen Spaltungen so weit auseinander, daß sich jede ihrer drei sauren Gruppen wie eine einbasische Säure behandeln läßt. Für die Eiweißkörper hingegen werden sich Kurven ergeben, die durch Verschmelzung vieler Spaltungsarten entstehen.

Das Verhalten mehrwertiger Basen entspricht selbstverständlich genau dem der mehrwertigen Säuren.

*Der Ampholyt.* Nachdem nun die $\vartheta$-Funktionen für jene Substanzen formuliert sind, die mehrere saure oder mehrere basische Gruppen im Molekül haben, bleiben noch jene Substanzen übrig, die im Molekül gleichzeitig saure und basische Gruppen aufweisen. Für einen derartigen Körper gebraucht man die Bezeichnung: „Ampholyt“.

Als einfachstes Beispiel wird zunächst der „zweiwertige“ Ampholyt betrachtet, der nur je eine saure und basische Gruppe besitzt. Er sei durch die Formel $HAOH$ angedeutet. Die Gleichgewichte zwischen folgenden Molekülarten sind zu berücksichtigen: $HAOH$, $AOH'$, $HA^\cdot$, $^\cdot A'$, $NaAOH$, $HACl$, $ACl'$, $NaA^\cdot$, $H^\cdot$, $OH'$, $H_2O$, $NaOH$, $HCl$, $Na^\cdot$, $Cl'$, $NaCl$. Das ganze System läßt sich wieder zu zwei Spaltungsgleichgewichten zusammenfassen:

$$1.\ H^\cdot + U \rightleftharpoons A \quad \text{bzw.} \quad \frac{[H^\cdot] \cdot [U]}{[A]} = k_1.$$

$$2.\ A \rightleftharpoons W + OH' \quad \text{bzw.} \quad \frac{[W] \cdot [OH']}{[A]} = k_2.$$

Hierbei gibt $U$ den alkalibindenden Anteil, $W$ den säurebindenden Anteil und $A$ den weder Säure noch Alkali bindenden Anteil an.

$k_1$ ist für gleichbleibendes [Cl′] konstant, wie bei Basen allgemein, $k_2$ für gleichbleibendes [Na˙], wie bei Säuren allgemein. Praktisch verursacht das keine Schwierigkeit, weil in Gebieten, in denen [Na˙] von Bedeutung ist, [Cl′] gar keine Rolle spielt und umgekehrt.

Es werden wieder zwei Spaltungsgrade

$$\gamma_1 = \frac{W}{G} \quad \text{und} \quad \gamma_2 = \frac{U}{G}$$

abgeleitet und mit deren Hilfe dann $\vartheta$. Hier muß nun unterschieden werden zwischen gebundener Säure und gebundener Lauge, zwischen dem molaren Bindevermögen für Titersäure $\vartheta_{\mathrm{HCl}}$ und dem molaren Bindevermögen für Titerlauge $\vartheta_{\mathrm{NaOH}}$. Es ergibt sich dann

$$\vartheta_{\mathrm{HCl}} = \gamma_1 - \gamma_2 \quad \text{und} \quad \vartheta_{\mathrm{NaOH}} = \gamma_2 - \gamma_1.$$

und schließlich

$$\vartheta = \pm \frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]k_1 - [\mathrm{OH}']k_2}{[\mathrm{H}^{\cdot}]k_1 + k_w + [\mathrm{OH}']k_2}. \tag{IX}$$

*Der isoelektrische Punkt.* Ein besonderer Punkt dieser Funktion ist der, für den $\gamma_1 = \gamma_2$ wird, also $\vartheta = 0$. Dies ist der „isoelektrische Punkt“. Für ihn gilt also

$$\frac{[\mathrm{H}^{\cdot}]k_1 - [\mathrm{OH}']k_2}{[\mathrm{H}^{\cdot}]k_1 + k_w + [\mathrm{OH}']k_2} = 0,$$

oder

$$[\mathrm{H}^{\cdot}]k_1 - [\mathrm{OH}']k_2 = 0,$$

oder schließlich

$$[\mathrm{H}^{\cdot}]^2 = \frac{k_2}{k_1} \cdot k_w.$$

Ist $i$ die Wasserstoffzahl des isoelektrischen Punktes, so kann man auch schreiben:

$$i = \tfrac{1}{2}(m_1 + m_2).$$

*Michaelis* kommt zu einer entsprechenden Bedingung für den isoelektrischen Punkt, indem er das Maximum seiner Dissoziationsrestfunktion durch Differentiation ableitet.

*Die Gestalt der Kurve zu Gleichung (IX).* Zur graphischen Darstellung der $\vartheta$-Funktion eines Ampholyten kann ganz wie bisher verfahren werden. Wir behandeln also auch weiterhin jeden Titerverbrauch als positive Größe und tragen dementsprechend jedes molare Säure- oder Alkalibindevermögen als positive Ordinate ein. Der isoelektrische Punkt $i$ der Kurve liegt dann auf der Abszissenachse; denn für ihn ist $\vartheta = 0$. Rechts und links von $i$ steigt die Kurve an. Die Teile der Kurve links von $i$, also die für kleineres $p_{\mathrm{H}}$, geben Säurebindungsvermögen an, die rechts von $i$ liegenden Teile Alkalibindevermögen.

Die Gestalt der Kurve hängt, wie bei der zweibasischen Säure, von der Größe der Konstanten ab, und zwar diesmal von ihrem Produkte $k_1 . k_2$. Wenn $k_1 k_2$ klein genug ist, verlaufen die beiden Spaltungen nacheinander, ohne sich gegenseitig zu beeinträchtigen, jede nach der einfachen Gleichung (III).

Wenn man aus den beiden Konstanten die beiden Größen $m_1$ und $m_2$ so ausrechnet, wie dies für die einwertigen Säuren und Basen angegeben

wurde, so ist die Differenz $m_2 - m_1$ wieder, genau wie bei der zweibasischen Säure, für die Gestalt der Kurve maßgebend.

Die beiden Hälften der Ampholytkurve gleichen wieder genau der einfachen $\gamma$-Kurve, wenn etwa $m_2 - m_1 > 4$. Ein Beispiel für einen derartigen Ampholyten bildet das Glykokoll. Seine Kurve, Abb. 3, ist aus den $\vartheta$-Werten der schon mitgeteilten Tabelle über die Versuchsreihe *Sörensens* gezeichnet.

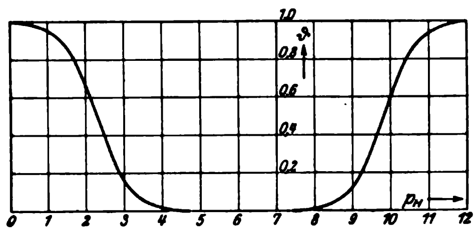



Abb. 3. Kurve des Glykokolls.

Ist $m_2 - m_1 < 4$, so weicht der Verlauf der beiden Kurvenhälften von dem einfacher $\gamma$-Kurven ab, und zwar am ersten und meisten dort, wo sie miteinander verknüpft sind, in der Mitte der Gesamtkurve. Dies spielt wieder eine Rolle bei der Bestimmung der Konstanten und der Konstruktion der Kurven. Die Betrachtungen, die über das Verschmelzen der Kurvenzüge zweier saurer Gruppen geführt wurde, lassen sich unverändert auf das Ineinandergreifen einer sauren und einer basischen Gruppe übertragen. Beispiele für diesen Fall liefern die Asparaginsäure und die Glutaminsäure (Abb. 4).

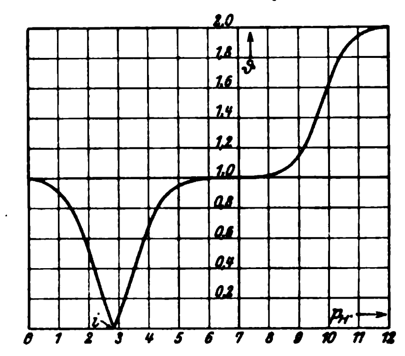



Abb. 4. Kurve der Asparaginsäure. Sie gibt links vom isoelektrischen Punkt *i* HCl-Bindevermögen, rechts davon NaOH-Bindevermögen an.

*Einführung von Vorzeichen.* Ein Rückblick auf die seither behandelten $\vartheta$-Funktionen besagt folgendes: Abgesehen davon, daß sich alle $\vartheta$-Kurven empirisch feststellen lassen, konnten wir rechnerisch verfolgen die der einwertigen Säuren und Basen und die aller möglichen Kombinationen von zwei sauren oder basischen Gruppen. Kommt eine dritte saure oder basische Gruppe hinzu, so bleibt die rechnerische Behandlung die gleiche und ebenso gut durchführbar wie zuvor. Liegt die Wirkungszone, die der dritten Gruppe zukommt, in der $p_H$-Leiter außerhalb der der beiden ersten, so läßt sich diese dritte Wertigkeit selbständig, wie eine einwertige Säure oder Base behandeln. Greifen die Wirkungsbereiche zweier Gruppen ineinander, so läßt sich für das betreffende $p_H$-Gebiet Gleichung (VIII) oder (IX) anwenden. Steht eine $p_H$-Zone unter dem Einfluß der drei Spaltungsarten gleichzeitig, so läßt sich die Beziehung zwischen $\vartheta$ und $[H^\cdot]$ ganz analog zu den früheren Fällen ableiten. Hierauf soll hier nicht näher eingegangen werden.

Es bietet keine Schwierigkeiten, die $\vartheta$-Funktion auch für eine größere Anzahl von Wertigkeiten aufzustellen. Alle möglichen Kombinationen von sauren und basischen Gruppen in einem Molekül erscheinen demnach als Glieder einer großen Reihe, die sich alle nach dem gleichen mathematischen Schema beherrschen lassen. Für alle Glieder dieser Reihe möchte ich,

um eine einfachere Ausdrucksweise zu ermöglichen, den gemeinsamen Namen „Acidolyt" vorschlagen. Die Analogie zu den Wortbildungen „Elektrolyt" und „Ampholyt" liegt auf der Hand.

Es ist eine noch einheitlichere und konsequentere Fassung des Systems der Acidolyte als die bis jetzt entwickelte möglich. Für den Ampholyten ergab sich das NaOH-Bindevermögen als $\vartheta_{NaOH} = \gamma_2 - \gamma_1$, das HCl-Bindevermögen als $\vartheta_{HCl} = \gamma_1 - \gamma_2$. Die beiden Ausdrücke unterscheiden sich nur durch Vorzeichenumkehrung. Dieses Verhalten des mathematischen Ausdrucks der $\vartheta$-Funktion liegt in ihrer Natur begründet. In der Tat haben in der Acidimetrie HCl und NaOH die Bedeutung gleichwertiger Größen mit umgekehrtem Vorzeichen. Äquivalente Mengen davon heben gegenseitig ihre Wirkung auf, vernichten sich wie $+ a$ und $- a$. Säuren wie Basen lassen sich nach zwei Richtungen titrieren. Es ist bekannt, daß man primäres Phosphat unter Umwandlung in sekundäres mit Phenolphthalein und Natronlauge titrieren kann, und ebenso sekundäres Phosphat unter Umwandlung in primäres mit Methylorange und Salzsäure. Das salzsaure Salz einer schwachen Base läßt sich wie eine Säure mit Natronlauge titrieren, das Natriumsalz einer schwachen Säure wie eine Base mit Salzsäure. $H^{\cdot}$-Abspaltung und $OH'$-Anlagerung sind acidimetrisch völlig gleichwertig, ebenso $H^{\cdot}$-Anlagerung und $OH'$-Abspaltung. Die beiden ersteren unterscheiden sich von den beiden letzteren nur durch Richtungs- oder *Vorzeichenverschiedenheit.*

Gleichung (V) stellte für den Titerverbrauch folgende Beziehung auf:

$$t = r \pm s.$$

Die Größen dieser Gleichung stellten bald Lauge, bald Säure vor. Wenn jetzt positives $t$ und $r$ nur Natronlaugemengen, negatives $t$ und $r$ Salzsäuremengen angeben, so ist $s$ für saure Lösungen, also bei $H^{\cdot}$-Überschuß, immer eine negative Größe und für alkalische Lösungen, also bei $OH'$-Überschuß, eine positive Größe. Es gilt dann in obiger Gleichung für alle Fälle das Minuszeichen:

$$t = r - s. \qquad (V')$$

Wir haben bei Säuren, Basen und Ampholyten schon viele Übereinstimmungen gefunden. Die gebliebenen Unterschiede in den Formelbildern beruhen auf der Gegensätzlichkeit der $H^{\cdot}$- und $OH'$-Abspaltung, der dem System zugrunde liegenden Hauptelemente. Auch die gebliebenen Unterschiede verschwinden, wenn wir diese zwei Grundelemente des Systems auf das eine der hin- und rückläufigen $H^{\cdot}$-Abspaltung beziehen, wenn wir im obigen Sinne Vorzeichen einführen. Man könnte ebensogut alles auf die $OH'$-Abspaltung beziehen. Der wichtigste Schritt in diesem Sinne ist für die graphische Darstellung bereits vollzogen worden durch die Wahl der $p_H$-Leiter als gemeinsames Bezugssystem für Säuren und Basen.

Dies soll nun auch in der rechnerischen Behandlung der Funktionen durchgeführt werden. Man drückt zu diesem Zwecke in den Gleichungen der Basen mit Hilfe des Wassergleichgewichtes (VI) $[OH']$ durch $[H^{\cdot}]$ aus. Die allgemeine Spaltungsgleichung einer einsäurigen Base lautet:

$$[B] \cdot [OH'] = k_b \cdot [BOH].$$

Setzt man nun $[OH'] = \frac{k_w}{[H^{\cdot}]}$, so folgt:

$$\frac{[H^{\cdot}] \cdot [BOH]}{[B]} = \frac{k_w}{k_b}.$$

Hiermit ist die Gleichung der Base auf die Form der allgemeinen Spaltungsgleichung der einbasischen Säure gebracht, deren Schema lautet:

$$\frac{[H^{\cdot}] \cdot [X]}{[Y]} = k.$$

Denn $\frac{k_w}{k_b}$ ist eine Konstante von der Art der übrigen Spaltungskonstanten.

Bei dieser Darstellungsweise verlieren die Kurven der einwertigen Säuren und Basen ihre frühere Richtungsverschiedenheit.

*Definition von m.* Man erkennt nun noch ein weiteres. Der Logarithmus dieser Konstanten $\frac{k_w}{k_b}$ ist nämlich gleich $\log k_w - \log k_b$. Kehrt man das Vorzeichen dieses Ausdruckes um, so erhält man jenen Ausdruck, der sich bei Basen für die Größe $m$ ergeben hat. $m$ kann jetzt also folgendermaßen definiert werden: $m$ ist der negative Logarithmus, der auf die *Wasserstoffionenabspaltung bezogenen Spaltungskonstanten* irgend einer sauren oder basischen Gruppe.

Der zugehörige Numerus, also die Konstante selbst, soll mit $M$ bezeichnet werden.

Die gegebene Definition läßt es nun auch einleuchtend erscheinen, daß sich mittels der Größen $m$ ganz gleichartige Angaben über die Kurven verschiedenartiger Acidolyten machen lassen, im Gegensatz zu den Größen $k$, die ja teils auf die $H^{\cdot}$-, teils auf die $OH'$-Abspaltung bezogen sind.

*Allgemeine Formulierung der $\vartheta$-Funktion.* Die seither benutzte Ampholytkurve ist eigentlich keine einheitliche Kurve. Sie stellt links und rechts vom isoelektrischen Punkt eigentlich zwei verschiedene Dinge dar, nämlich $\vartheta_{HCl}$ und $\vartheta_{NaOH}$. Sie weist dementsprechend im isoelektrischen Punkt eine Unstetigkeit auf, die sich bei kleinem $m_2 - m_1$ zur scharfen Spitze gestaltet. Die regelrechte Auswertung der Gleichung (IX) ergibt dagegen eine stetige Kurve. Nur erhält man dabei auf der einen Seite des isoelektrischen Punktes positive, auf der anderen Seite negative Werte von $\vartheta$. Die Kurve steigt oder fällt ständig und wird von der Abszissenachse im isoelektrischen Punkt geschnitten (siehe Hauptkurvenblatt, Abb. 6). Sie gleicht dann der in der Richtung der Ordinatenachse um $\vartheta = 1$ nach unten verschobenen Kurve einer zweibasischen Säure. Dies entspricht dem tatsächlichen Verhalten des Ampholyten bei der Titration. Es liege z. B. in der Lösung das primäre Na-Salz der Asparaginsäure vor. Läßt man HCl zufließen, so wird zuerst die Spaltung der ersten Carboxylgruppe zurückgedrängt und dann von der Aminogruppe $OH'$ abgespalten. Die beiden Vorgänge verbrauchen HCl, sie greifen kontinuierlich ineinander, addieren sich, eine Trennungslinie zwischen ihnen läßt sich nicht erkennen.

Die Kurven von Ampholyt und zweibasischer Säure nehmen also jetzt die gleiche Gestalt an. Dasselbe werden wir jetzt an der mathematischen Form der $\vartheta$-Funktion beobachten. Die Reaktionen der zweibasischen Säure waren zusammengefaßt worden in den beiden Spaltungsgleichgewichten:

$$1.\ H_2S \rightleftharpoons H^{\cdot} + U_1. \qquad 2.\ U_1 \rightleftharpoons H^{\cdot} + U_2.$$

Die Reaktionen des Ampholyten waren zusammengefaßt worden zu:

$$1.\ W + OH' \rightleftharpoons A. \qquad 2.\ A \rightleftharpoons H^{\cdot} + U.$$

Die erste Spaltungsgleichung für den Ampholyten, für welche

$$\frac{[W] \cdot [OH']}{[A]} = k_b$$

gilt, läßt sich ebenso umformen, wie dies oben für die Spaltungsgleichung einer einwertigen Base geschehen ist. Man erhält dann:

$$\frac{[H^{\cdot}] \cdot [A]}{[W]} = \frac{k_w}{k_b}.$$

Man schreibe jetzt in den Gleichungen der zweibasischen Säure für $H_2S$, $U_1$ und $U_2$ der Reihe nach die Buchstaben $X$, $Y$ und $Z$ und an Stelle der Bezeichnungen $W$, $A$ und $U$ in den Gleichungen des Ampholyten schreibe man ebenfalls der Reihe nach $X$, $Y$ und $Z$. Dann erhält man gemeinsam für die beiden Acidolyte:

$$1.\ \frac{[H^{\cdot}] \cdot [Y]}{[X]} = M_1 \quad \text{bzw.} \quad X \rightleftharpoons H^{\cdot} + Y.$$

$$2.\ \frac{[H^{\cdot}] \cdot [Z]}{[Y]} = M_2 \quad \text{bzw.} \quad Y \rightleftharpoons H^{\cdot} + Z.$$

Damit sind die Spaltungsgleichungen des Ampholyten auf die Form derjenigen der zweibasischen Säure gebracht. Das Umgekehrte wäre ebensogut möglich gewesen. Wir wollen jedoch hierbei bleiben und uns auch die Spaltungsgleichungen der zweisäurigen Basen auf die nämliche Form gebracht denken. Dies kann ohne weiteres nach dem gleichen Schema geschehen. Es braucht daher wohl auch nicht näher ausgeführt zu werden, daß die Kurve der zweiwertigen Base bei konsequenter Vorzeichensetzung zu der um zwei Einheiten nach unten verschobenen Kurve der zweiwertigen Säure wird.

Nun soll die *allgemeine $\vartheta$-Funktion* zunächst für alle zweiwertigen Acidolyte aufgestellt werden. Als allgemeines Schema für die beiden Spaltungen dürfen wir jetzt schreiben:

$$1.\ A \rightleftharpoons H^{\cdot} + B \quad \text{bzw.} \quad [H^{\cdot}] \cdot [B] = M_1 \cdot [A].$$

$$2.\ B \rightleftharpoons H^{\cdot} + C \quad \text{bzw.} \quad [H^{\cdot}] \cdot [C] = M_2 \cdot [B], \text{ wobei}$$

$$3.\ A + B + C = G.$$

Ist nun außerdem:

$$4.\ \gamma_1 = \frac{A}{G}, \quad \gamma_2 = \frac{B}{G}, \quad \gamma_3 = \frac{C}{G},$$

so folgt noch:

$$5.\ \gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 = 1.$$

denn $\gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 = \frac{A}{G} + \frac{B}{G} + \frac{C}{G} = \frac{G}{G}$, nach 3.

Die Spaltungskonstanten der beiden Reaktionen 1. und 2. sind $M_1$ und $M_2$. Diese beiden Werte können einer zweibasischen Säure, einem Ampholyten oder einer zweisäurigen Base angehören. Nach früheren Überlegungen ist das molare Bindevermögen — positive $\vartheta$-Werte geben jetzt NaOH-Bindevermögen an, negative $\vartheta$-Werte HCl-Bindevermögen —

für die zweibasische Säure . . 6. $\vartheta_s = + \gamma_2 + 2\gamma_3$,
für den Ampholyten . . . . . 7. $\vartheta_a = -\gamma_1 + \gamma_3$,
für die zweisäurige Base . . . 8. $\vartheta_b = -2\gamma_1 - \gamma_2$.

Aus 6., 7. und 8. ergibt sich durch Subtraktion:

$$9.\ \vartheta - \vartheta_a = \gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 = 1 \text{ [s. Gleichung (5)]},$$

$$10.\ \vartheta_a - \vartheta_b = \gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 = 1,$$

$$11.\ \vartheta - \vartheta_b = 2\gamma_1 + 2\gamma_2 + 2\gamma_3 = 2.$$

Das besagt, daß, wie schon das graphische Bild gezeigt hatte, die $\vartheta$-Funktion eines Ampholyten sich von der einer zweibasischen Säure mit den gleichen $M$-Werten nur dadurch unterscheidet, daß alle $\vartheta$-Werte um eine Einheit niedriger sind. Die $\vartheta$-Werte der entsprechenden zweisäurigen Base mit den gleichen $M$-Werten sind um eine Einheit kleiner als die des Ampholyten, um zwei Einheiten kleiner als die der zweibasischen Säure.

Die Gestalt der Kurve, die relativen Änderungen in $\vartheta$, sind die gleichen für alle diese drei Acidolyte. Die absoluten $\vartheta$-Beträge für bestimmte $p_H$-Werte sind um eine oder zwei Einheiten verschieden. Für die Acidimetrie sind in erster Linie die zu bestimmten $p_H$-Änderungen gehörigen $\vartheta$-Änderungen von Interesse, also die Gestalt der Kurve, die für alle drei Fälle gemeinsam ist.

Wir wollen diesen Gedankengang noch kurz allgemein für einen $n$-wertigen Acidolyten formulieren. Der $n$-wertige Acidolyt hat zusammen $n$-saure und basische Gruppen. Das Schema seiner Spaltungen lautet:

$$A \rightleftharpoons H^{\cdot} + B,$$
$$B \rightleftharpoons H^{\cdot} + C,$$
$$\cdots\cdots\cdots$$
$$Y \rightleftharpoons H^{\cdot} + Z,$$

wobei stets: $G = A + B + C + \cdots + Y + Z.$

Ist nun außerdem:

$$\frac{A}{G} = \gamma_1, \quad \frac{B}{G} = \gamma_2, \quad \frac{C}{G} = \gamma_3 \cdots \frac{Z}{G} = \gamma_n,$$

so folgt noch:

$$\gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 \cdots + \gamma_n = 1.$$

Die $\gamma$-Werte lassen sich nach früherem Muster gewinnen. Die $\vartheta$-Funktion ergibt sich dann schließlich als:

$$\vartheta = \gamma_2 + 2\gamma_3 + 3\gamma_4 + \cdots + (n-1)\gamma_n - x(\gamma_1 + \gamma_2 + \gamma_3 + \cdots \gamma_n) \qquad \text{(X)}$$

wo $x$ angibt, wie viele von den $n$-Gruppen basisch sind.

### *III. Die acidimetrische Titration.*

Wir haben uns über die Eigenschaften der $\vartheta$-Funktion unterrichtet. Jetzt soll ihre Anwendung auf die Acidimetrie besprochen werden. Diese beruht auf der Messung jener Titermenge, die dazu nötig ist, bestimmte $p_H$-Änderungen in der Lösung der fraglichen Substanzen hervorzurufen. Zur Verfolgung der $p_H$-Änderungen können verschiedene Methoden dienen. Am bequemsten ist das übliche Titrieren mit Indikatoren. Ich spreche deshalb einfach von „Titrationen". Nachfolgende Betrachtungen gelten jedoch auch bei Anwendung anderer Methoden.

*Titration einer einzelnen Substanz.* Die Betrachtung der einfachen $\gamma$-Kurve lehrt, daß die Aufspaltung einer sauren oder basischen Gruppe bzw. deren Zurückdrängung in praktischer Vollständigkeit stets innerhalb eines bestimmten $p_H$-Intervalls, ihrer „Pufferzone", stattfindet. Die $p_H$-Änderung z. B., die stattfinden muß, um die 1proz. Aufspaltung einer einwertigen Säure oder Base in die 99proz. überzuführen, beträgt stets vier Einheiten in $p_H$. Bei mehrwertigen Acidolyten sind die Verhältnisse ähnlich und lassen sich leicht aus ihrer Kurve erkennen. Es wurde schon davon gesprochen, daß die Titrationen nach zwei Richtungen hin erfolgen können, d. h., daß die Pufferzone von ihren beiden Enden her durchlaufen werden kann. Titriert man irgend eine einwertige Säure oder Base über

ihre Pufferzone hinweg, so wird eine Titermenge $r$ gebunden, die ihrer Menge $G$ äquivalent ist. Eine etwa vorher in der Lösung vorhandene beliebige Menge freier Mineralsäure oder Alkalilauge stört dabei gar nicht. Störend wirkt nur die Gegenwart solcher Acidolyte, deren Pufferzone in den gleichen Bereich fällt. So vermag die Kohlensäure in vielen Fällen störend zu wirken. In diesem Falle ist jedoch leicht dadurch abzuhelfen, daß man die Lösung erst salzsauer macht und kocht. Danach kann man ja wieder auf jedes gewünschte $p_H$ einstellen.

*Titrationspunkte.* Es ist aber nicht erforderlich, über die ganze Pufferzone hinweg zu titrieren. Es liege als Beispiel ein einwertiger Acidolyt vor, für den $m = 8$ ist (siehe Abb. 1).

Wir nehmen als ersten Titrationspunkt die Stufe 7. Die $\vartheta$-Kurve gibt für $p_H = 7$ den $\vartheta$-Wert $\vartheta_1 = 0{,}09$ an. Als zweiten Titrationspunkt wählen wir Stufe 8,5. Hierfür lesen wir ab: $\vartheta_2 = 0{,}76$. Bei Titration von $p_H = 7$ auf $p_H = 8{,}5$ beträgt die Änderung in $\vartheta$, sie sei mit $x$ bezeichnet, $x = \vartheta_2 - \vartheta_1 = 0{,}67$. War dabei der Titerverbrauch $r$, so ist $r = 0{,}67 . G = x . G$. Und man findet die gesuchte Menge des Acidolyten als:

$$G = \frac{r}{0{,}67}.$$

*Man kann also jetzt beliebige $p_H$-Werte als Titrationspunkte verwenden.*

Es sind nicht alle Punkte der Kurve gleich gut als Titrationspunkte geeignet. Maßgebend hierfür ist die Neigung der betreffenden Kurvenstelle gegen die Abszissenachse. Der mittlere Teil der einfachen $\gamma$-Kurve ist der steilste.

Die $p_H$-Bestimmung ist nur mit einer beschränkten Genauigkeit möglich, potentiometrisch bestenfalls bis auf $\pm$ 0,03. An den steilen Kurvenstrecken entspricht einer bestimmten $p_H$-Änderung eine viel größere $\vartheta$-Änderung als der gleichen an einer flachen Kurvenstelle. Demgemäß ist die Unsicherheit im abgelesenen $\vartheta$ an steilen Kurvenstellen größer als an flachen. Letztere sind daher als Titrationspunkte vorzuziehen. Einer Änderung bzw. einem Fehler in $p_H$ um 0,01 entspricht an der steilsten Stelle der $\gamma$-Kurve eine $\vartheta$-Änderung von etwa 0,005 = 0,5 Proz.

Bei Gemischen von Acidolyten ist ein Nebeneinanderbestimmen der einzelnen Bestandteile oft nur möglich unter Verwendung des steilen Teils der Kurve zur Titration. Man wird jedoch auch eine verminderte Genauigkeit in Kauf nehmen bei Aufgaben, denen auf anderem Wege nicht beizukommen ist.

Als weitere Regel ist noch anzuführen, daß man, ebenfalls der Genauigkeit halber, die Titrationspunkte am günstigsten so wählt, daß die bei der Titration durchlaufene $\vartheta$-Änderung möglichst groß ist.

Außer diesen allgemeinen Gesichtspunkten können natürlich noch andere bei der Wahl von Titrationspunkten maßgebend sein, wie der Unterschied der Schärfe der $p_H$-Bestimmungsmethoden für verschiedene $p_H$-Stufen, oder das Bestreben stark saure oder alkalische Gebiete nach Möglichkeit zu vermeiden.

*Titration von Gemischen.* Die seitherigen Ergebnisse sollen jetzt auf die acidimetrische Analyse von Gemischen angewandt werden. Wenn mit einer gewissen Titermenge zusammen verschiedene Acidolyte gleichzeitig in einer Lösung zugegen sind und sie nicht irgendwelche sonstige Reaktionen miteinander eingehen, wird die Gleichgewichtslage anders sein, als wenn die einzelnen Acidolyte mit der gleichen Titermenge allein in der Lösung wären.

Aber die Gleichgewichtsbeziehungen der einzelnen Bestandteile des Gemisches sind doch die gleichen geblieben, ihre $\vartheta$-Spaltungsgleichungen und ihre $\vartheta$-Funktionen sind unverändert gültig. Ein Versuch an einem Glykokoll-Asparagin-Säuregemisch bestätigte dies.

*Titrationsstrecken.* Zur Titration eines einzelnen Acidolyten sind zwei „*Titrationspunkte*" oder eine „*Titrationsstrecke*" erforderlich. Zur Titration zweier Acidolyten sind zwei Titrationsstrecken nötig, d. h. drei oder vier Titrationspunkte. Zur Titration von $n$ Bestandteilen sind $n$ Titrationsstrecken erforderlich, denn es sind so viele Bestimmungsgleichungen nötig, als Substanzmengen gesucht sind, und jede Titrationsstrecke liefert eine Bestimmungsgleichung. Zur Trennung je zweier Bestandteile eines Gemisches ist außerdem erforderlich, daß wenigstens die einer der Titrationsstrecken entsprechende $\vartheta$-Änderung für die beiden Bestandteile genügend verschieden ist.

Hier sei ein schematisches Beispiel besprochen. Siehe hierzu Abb. 1. Die beiden Acidolyte $A$ und $B$, die beide einwertig sind, seien nebeneinander zu titrieren. Für $A$ sei $m = 6$; für $B$ sei $m = 8$; die gesuchten Gesamtmengen seien $G_1$ und $G_2$. Als Titrationspunkte seien gewählt:

1. $p_H = 4{,}5$; 2. $p_H = 7{,}0$; 3. $p_H = 9{,}5$.

Für die erste Titrationsstrecke, 4,5 bis 7,0, entnimmt man aus der Figur:

| | $\vartheta$-Änderung | Titerverbrauch |
|---|---|---|
| Für $A$ . . . . . | 0,88 | $r_1 = 0{,}88 \,.\, G_1$ |
| Für $B$ . . . . . | 0,09 | $r_2 = 0{,}09 \,.\, G_2$ |

Insges. Titerverbrauch $R_1 = 0{,}88 \,.\, G_1 + 0{,}09 \,.\, G_2$

Für die zweite Titrationsstrecke, 7,0 bis 9,5, beträgt:

| | $\vartheta$-Änderung | Titerverbrauch |
|---|---|---|
| Für $A$ . . . . . | 0,09 | $r_1 = 0{,}09\, G_1$ |
| Für $B$ . . . . . | 0,88 | $r_2 = 0{,}88\, G_2$ |

Insges. Titerverbrauch $R_2 = 0{,}09\, G_1 + 0{,}88\, G_2$

Die Titration liefert die Werte von $R_1$ und $R_2$. Es werde gefunden:

$$R_1 = 10{,}60 \text{ ccm n/10 Titer},$$
$$R_2 = 18{,}50 \text{ ccm n/10 Titer}.$$

Man erhält dann die beiden Bestimmungsgleichungen:

$$1.\ 0{,}88\, G_1 + 0{,}09\, G_2 = 10{,}60,$$
$$2.\ 0{,}09\, G_1 + 0{,}88\, G_2 = 18{,}50.$$

Löst man dieses Gleichungssystem nach $G_1$ und $G_2$ auf, so findet man:

$$G_1 = 10 \text{ ccm n/10} = 1 \text{ Millimol},$$
$$G_2 = 20 \text{ ccm n/10} = 2 \text{ Millimol}.$$

Auf diese Art kann man beispielsweise leicht Borsäure und Phosphorsäure nebeneinander titrieren, was ein Orientierungsversuch bestätigte.

*Möglichkeiten und Grenzen der acidimetrischen Titration.* Voraussetzung für die acidimetrische Analyse eines Gemisches ist, daß die $m$-Werte der Bestandteile genügend große Unterschiede aufweisen; mit anderen Worten, daß ihre $\vartheta$-Kurven nicht zu nahe beieinander liegen. Dies ergibt sich, wenn man in den verschiedenen Fällen den Einfluß der Versuchsfehler auf das Resultat verfolgt.

Wenn nämlich die Kurven nahe beieinander liegen, muß man einerseits um die Verschiedenheit der einzelnen Bestandteile überhaupt zu erfassen, Titrationspunkte an steilen Kurvenstellen benutzen, wodurch die Versuchsfehler größer werden als bei Verwendung flacherer Kurvenstellen. Andererseits sind bei den verschiedenen Bestandteilen des Gemisches die $\vartheta$-Änderungen auf der möglichst günstig gewählten Titrationsstrecke um so weniger verschieden voneinander, je näher beieinander die Kurven liegen. Der Unterschied der $\vartheta$-Änderungen ist aber von großer Bedeutung. Je kleiner er ist, desto stärker werden die Versuchsfehler durch die Rechnung vergrößert und um so mehr beeinträchtigen sie das Resultat.

Für bestimmte Versuchsgenauigkeiten und bestimmten Genauigkeitsanspruch an das Resultat kann man jeweils eine untere Grenze für $m_2 - m_1$ angeben, unterhalb welcher die erhaltenen Resultate nicht mehr der gestellten Forderung genügen.

Die Abschätzung der erreichbaren Genauigkeit im Einzelfalle ist nicht schwer. Hier sei nur noch eine kurze Übersicht gegeben. Bei zwei einwertigen Acidolyten multiplizieren sich die Versuchsfehler, wenn

| $m_2 - m_1 =$ | 3,0 | 2,5 | 2,0 | 1,5 | 1,0 | 0,55 | 0,35 | 0,17 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| mit $f$ = | 1,05 | 1,11 | 1,25 | 1,45 | 2,0 | 3,0 | 5,0 | 10,0 |

Wenn die Konstanten verschiedener Acidolyte für eine acidimetrische Analyse ihrer Gemische ungünstig erscheinen, so sind wir jedoch nicht am Ende. Es gibt noch eine Reihe von Möglichkeiten, die doch noch zum Ziele führen können: Man kann versuchen, die Konstanten zu verschieben. Dies kann dadurch geschehen, daß man das Lösungsmittel verändert, oder daß man Substanzen zusetzt, die mit den betreffenden Acidolyten reagieren, sei es durch Niederschlags- oder Komplexbildung, sei es durch eine tiefergreifende chemische Umwandlung. In diesem Sinne ist z. B. die von *R. Willstätter* und *E. Waldschmidt-Leitz*[1]) angegebene Titration von Eiweißabkömmlingen unter Alkoholzusatz und die von *S. P. L. Sörensen*[2]) angegebene Formoltitration der Aminosäuren aufzufassen.

Schließlich bleibt noch eine Möglichkeit zu erwähnen. Für die Lösung eines bestimmten Acidolytgemisches läßt sich ebenso wie für jeden einzelnen Acidolyten eine $\vartheta$-Kurve aufstellen, die sich auch hier leicht experimentell bestimmen läßt. Diese Kurve besagt alles, was sämtliche Titrationen zusammen unter den betreffenden Bedingungen auszusagen vermögen. Sie kann daher für die Untersuchung von Gemischen von besonderem Werte sein und ist von mir z. B. für die Aminosäurengemische ermittelt worden, die durch vollständige Hydrolyse von Eiweißkörpern gewonnen sind. Diese Kurven geben auch dann noch manchen Aufschluß über das vorliegende Gemisch, wenn eine eigentliche acidimetrische Analyse nicht möglich ist.

In einer Abhandlung, die während der Abfassung dieser Arbeit erschien, stellt auch *J. M. Kolthoff* Untersuchungen darüber an, welches Größenverhältnis die Konstanten zweier Säuren oder zweier Basen aufweisen müssen, wenn es noch möglich sein soll, sie nebeneinander zu titrieren[3]).

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 54, 2988, 1921.

[2]) Diese Zeitschr. 7, 45, 1908.

[3]) De titratie van middelmatig sterke zuren of basen naast zeer zwakke. Pharm. Weckblad Nr. 6, 1922.

Im Interesse der Kürze kann dieser Punkt hier nicht so eingehend besprochen werden, wie *Kolthoff* dies tut; ich kann daher auch nicht auf die Einzelheiten der *Kolthoff*schen Abhandlungen eingehen und nur einige wesentliche Punkte herausgreifen. In der genannten Arbeit wird lediglich mit Titrationen auf den „Äquivalenzpunkt" gerechnet. Wie ich schon ausgeführt habe, kann man auf dieser Grundlage schwer allgemeine Überblicke über acidimetrische Verhältnisse gewinnen. Die Untersuchungen *Kolthoffs* sind dementsprechend nur auf Gemische zweier einwertiger Säuren oder Basen eingestellt und, was eine sehr wesentliche Beschränkung bedeutet, sie sind nur für den Fall abgeleitet und gültig, daß die beiden Substanzen in gleicher Konzentration vorliegen.

Es war schon davon die Rede, daß eine derartige Einschränkung für acidimetrische Zwecke höchst hinderlich ist.

*Kolthoff* kommt zu dem Ergebnis, daß unter der angegebenen Bedingung eine Titration auf 1 Proz. Genauigkeit dann noch möglich sei, wenn das Verhältnis $K_1 : K_2$ gleich oder größer als $10^4$ ist.

Die in der vorliegenden Arbeit aufgezeigten Möglichkeiten, die „freie Titermenge" auszuschalten und auf beliebige Punkte der $\vartheta$-Kurven von Substanzen in beliebigen Gemischen zu titrieren, bedeuten eine beträchtliche Erweiterung der Grenzen der möglichen Titrationen. Weil die $p_H$-Bestimmungsmethoden verhältnismäßig wenig scharf sind, kommt diese Grenzerweiterung besonders stark zur Geltung, wenn man die Genauigkeitsansprüche an das Resultat nicht allzu hoch stellt. Außerdem ermöglichen die hier gewonnenen Ergebnisse die erwähnten Beschränkungen, an welche die Betrachtungen *Kolthoffs* gebunden sind, wegzuräumen und die Titrationsmöglichkeiten auf der verbreiterten Basis ganz allgemein, für beliebige Substanzen in beliebiger Mischung leicht zu übersehen.

Die gewonnenen Gesichtspunkte und Methoden ermöglichen es jetzt, den Zusammenhang zwischen den acidimetrischen Titerverbrauchszahlen und der Zusammensetzung der titrierten Lösungen klar zu übersehen.

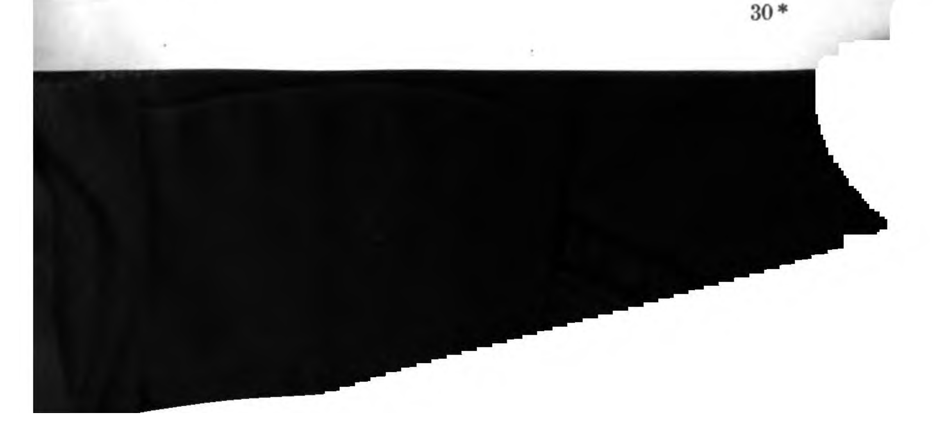
## B. Spezieller Teil.

Mit Hilfe der im Allgemeinen Teil gewonnenen Resultate können nun die acidimetrischen Verhältnisse der Aminosäuren und Eiweißkörper systematisch studiert werden.

Den Schlüssel zur klaren Übersicht über acidimetrische Verhältnisse bildet die $\vartheta$-Funktion. Ihre Kenntnis ermöglicht die erschöpfende Beurteilung der Titrationsmöglichkeiten für den betreffenden Fall.

Hier sollen die $\vartheta$-Funktionen der Eiweißkörper und ihrer Spaltungsprodukte untersucht werden. Zu diesem Zwecke ist es nur nötig, an bekannten Substanzmengen zusammengehörige Werte von $\vartheta$ und $[H^{\cdot}]$ zu beobachten. $[H^{\cdot}]$ wird gemessen und $\vartheta$ ergibt sich als Verhältnis der gebundenen Titermenge $r$ zur Gesamtsubstanzmenge $G$. $r$ wiederum ist $t - s$. Um $\vartheta$ zu bestimmen, muß man also $G$, $t$ und $s$ messen. $G$ und $t$ werden auf gewöhnliche Weise durch Wägung oder Volumenmessung erhalten. Die Bestimmung von $s$ hängt eng mit der $[H^{\cdot}]$-Messung zusammen.





Es ist von Wichtigkeit, Fehlergrenze und Anwendungsbereich der Untersuchungsmethoden zu kennen. Denn die Verwendungsmöglichkeit der zu gewinnenden Resultate hängt in hohem Grade von ihrer Genauigkeit ab. Ferner sind gerade die Grenzgebiete des Anwendungsbereiches unserer Untersuchungsmethoden für die Eiweißabkömmlinge von besonderem Interesse, und es ist von Vorteil, diesen Bereich möglichst weit zu spannen.

Für Anwendungsbereich und Fehlergrenze unserer Untersuchungen sind in erster Linie der Anwendungsbereich und die Fehlergrenze der Bestimmungen von $[H^{\cdot}]$ und $s$ maßgebend, denn die Bestimmungen von $G$ und $t$ sind mit bedeutend weiter reichender Genauigkeit möglich.

In der Dissertation werden die Anwendungsmöglichkeiten der Methoden zur Bestimmung von $[H^{\cdot}]$ und $s$ einer eingehenden Betrachtung unterzogen.

Wie schon erwähnt wurde, geschieht die Bestimmung von $s$ oft am vorteilhaftesten direkt experimentell durch einen Vergleichsversuch (blinden Versuch) mit reinem Wasser (s. S. 439).

Als empfehlenswertester Weg zur Bestimmung der freien Titermenge $s$ bei Verwendung der Gaskettenmethode zur $p_H$-Messung ergab sich der nachfolgend beschriebene: Es sei $\vartheta_{HCl}$ der Dissoziationsgrad und (HCl) sei die Gesamtkonzentration der freien Salzsäure. Dann ist definitionsgemäß:

$$\delta_{HCl} = \frac{[H^{\cdot}]}{(HCl)},$$

oder in logarithmischer Schreibweise:

$$\log \delta_{HCl} = \log [H^{\cdot}] - \log (HCl).$$

Bekanntlich ist $p_H$ gleichbedeutend mit $-\log [H^{\cdot}]$. Ganz entsprechend soll nun $-\log (HCl) = p_{HCl}$ und $\log \delta = p_\delta$ gesetzt werden. Man erhält dann

$$p_\delta = p_H - p_{(HCl)} \quad \text{oder} \quad p_{(HCl)} = p_H - p_\delta.$$

An einer Reihe von Lösungen mit bekannter Konzentration der freien Säure wurde $p_H$ gemessen und so $p_\delta$ gewonnen. Die so erhaltenen Werte von $p_\delta$ zeigten in sehr schöner Übereinstimmung den Wert 0,13, wenn die Gesamtchlorionenkonzentration der Lösung kleiner als n/10 blieb. ($[Cl] < 0{,}1$). Für größeres [Cl] wurden unregelmäßige Werte erhalten.

Liegt also eine salzsaure Lösung vor, für die [Cl] kleiner als 0,1 ist, so kann man diesen Wert $p_\delta = 0{,}13$ dazu benutzen, um auf sehr einfache Weise aus dem gemessenen $p_H$-Wert die Menge der freien Salzsäure $s$ zu berechnen. Man setzt $p_{(HCl)} = p_H - 0{,}13$. Zu $p_{(HCl)}$ entnimmt man aus der Logarithmentafel den Wert von (HCl) als Numerus. Ist das Volumen der Lösung $v$, so erhält man dann die Menge der freien Säure als $s = v \cdot (HCl)$.

Genau wie für HCl wurde $p_\delta$ auch für NaOH ermittelt. Für $[Na] < 0{,}1$ ergab sich hier $p_\delta = 0{,}165$. Dieser Wert ermöglicht es, die freie Natronlauge in einer natronalkalischen Lösung mittels einer Gaskettenmessung zu bestimmen.

Die ermittelten Werte von $p_\delta$ stimmen nicht überein mit den Werten, die sich aus den bekannten Dissoziationsgraden verdünnter Salzsäuren und Natronlaugen berechnen lassen. Die Ursache dieser Abweichung habe ich nicht untersucht. Jedenfalls liefert das angegebene Verfahren Werte von $s$, die allen gestellten Anforderungen genügen.

Nach den neueren Anschauungen der Physikochemiker sind für die verschiedenen Wirksamkeiten der Wasserstoffionenkonzentration ver-

schiedene „Aktivitätskoeffizienten" anzunehmen. Dann würde also die Größe der Wasserstoffionenkonzentration sich in ihren Massenwirkungen, ihrem Einfluß auf das Potential der Gaskette, ihren katalytischen Wirkungen, verschiedenartig ausdrücken. Die auf diese verschiedenen Wirksamkeiten der Wasserstoffionenkonzentration gegründeten Verfahren zu ihrer Bestimmung würden lediglich die verschiedenen „Aktivitäten" der Wasserstoffionenkonzentration und nicht diese selbst erfassen und brauchten demnach keine übereinstimmenden Ergebnisse zu liefern. Dieser Gedankengang zeigt jedenfalls, daß eine absolut richtige Bestimmung der $[H^{\cdot}]$ auf prinzipielle Schwierigkeiten stößt. Ich lege meinen acidimetrischen Studien jene $p_H$-Werte zugrunde, die ich mittels des Gaskettenmeßverfahrens nach der Versuchsanordnung von *Michaelis*[1]) finde. (Nähere Einzelheiten siehe Dissertation.) Die Berechtigung dieses Vorgehens tut sich dadurch kund, daß die auf diesem Wege erhaltenen Resultate sich vollständig im Einklang befinden mit den im Allgemeinen Teil unter Zugrundelegung der wirklichen Wasserstoffionenkonzentration hergeleiteten Ergebnisse.

## *I. Aminosäuren.*

Von den Eiweißabkömmlingen wurden zuerst die Aminosäuren untersucht. Die Aminosäuren, die bei der Hydrolyse der Eiweißkörper als Endprodukte erscheinen, sind die am besten definierten und einfachsten der Eiweißabkömmlinge. An ihnen lassen sich die aufgestellten Theorien am leichtesten erproben. Man kann die $\vartheta$-Kurven experimentell punktweise ermitteln. Man kann sie aber auch leicht zeichnen, wenn man die zugehörigen Spaltungskonstanten kennt, die den spezifischen Charakter der betreffenden Substanzen zum Ausdruck bringen. Deren Zusammenhang mit den eigentlichen Affinitäts- oder Dissoziationskonstanten ist durch Gleichung (II) ausgedrückt.

Von den im Eiweiß vorkommenden Aminosäuren habe ich, soweit sie zu meiner Verfügung standen, die Spaltungskonstanten gemessen und damit ihre Kurven gewonnen.

Zur Bestimmung der Spaltungskonstanten — von nun an kurz „Konstanten" genannt — diente einheitlich die auf S. 445 angegebene einfache, auf der $p_H$-Messung beruhende Methode. $p_H$ wurde potentiometrisch bestimmt.

Die Konstanten sind von der Temperatur und in gewissem Grade auch von $[Cl']$ bzw. $[Na^{\cdot}]$ abhängig. Ich hielt daher stets die Temperatur $18^0$ C ein. Außerdem hielt ich im allgemeinen bei Messungen von Säurekonstanten $[Na] = n/10$, bei Messungen von Basenkonstanten $[Cl] = n/10$. Dies wurde einfach dadurch erreicht, daß ich zum Lösen der Aminosäuren statt Wasser n/10 NaCl-Lösung anwandte und dann mit n/10 HCl bzw. n/10 NaOH arbeitete. Somit waren auch die Versuchsbedingungen einheitlich.

---

[1]) l. c.

Die Dissoziationskonstanten der Aminosäuren waren zum Teil schon bestimmt. Eine Zusammenstellung der früheren Messungen gibt *H. Lundén* (l. c.). Er führt an:

| | Säuredissoziations-konstante | Basendissoziations-konstante |
|---|---|---|
| Glykokoll . . . . . . . | $1{,}8 . 10^{-10}$ | $2{,}66 . 10^{-12}$ |
| Leucin . . . . . . . . | $1{,}8 . 10^{-10}$ | $2{,}33 . 10^{-12}$ |
| α-Alanin . . . . . . . . | $1{,}9 . 10^{-10}$ | $5{,}14 . 10^{-12}$ |
| Asparaginsäure . . . . | $1{,}5 . 10^{-4}$ | $1{,}20 . 10^{-12}$ |
| Phenylalanin . . . . . | $2{,}5 . 10^{-9}$ | $1{,}3 . 10^{-12}$ |
| Tyrosin . . . . . . . . | $4{,}0 . 10^{-9}$ | $2{,}6 . 10^{-12}$ |

*A. Kanitz*[1]) hat noch Messungen am Histidin, Lysin sowie Arginin angestellt. Bei den ersten, stärkeren basischen Gruppen von Lysin und Arginin versagte jedoch die von *Kanitz* angewandte Bestimmungsmethode, und er kann nur angeben, daß diese beiden Konstanten jedenfalls größer als $10^{-7}$ sind. Die Säurekonstante des Arginins ist so klein, daß sie sich ebenfalls der Bestimmung entzog. Folgende Übersicht stellt die Versuchsergebnisse der genannten Arbeit zusammen:

| | Säuredissoziations-konstante | 1. Basendissoziations-konstante | 2. Basendissoziations-konstante |
|---|---|---|---|
| Histidin . . . | $2{,}2 . 10^{-9}$ | $5{,}7 . 10^{-9}$ | $5{,}0 . 10^{-13}$ |
| Lysin. . . . . | $1-2 . 10^{-12}$ | $> 1 . 10^{-7}$ | $2{,}2 . 10^{-12}$ |
| Arginin. . . . | $< 1{,}11 . 10^{-14}$ | $> 1 . 10^{-7}$ | $1{,}1 . 10^{-12}$ |

Die oben zusammengestellten Dissoziationskonstanten stammen von verschiedenen Untersuchern und sind nicht mittels einer einheitlichen Methode und nicht unter einheitlichen Versuchsbedingungen gewonnen. Es schien daher geraten, auch jene Aminosäuren nochmals zu untersuchen, deren Dissoziationskonstanten bereits in der Literatur angegeben sind.

*Zweiwertige Aminosäuren.* Die einfachste Aminosäure, das Glykokoll, $NH_2 . CH_2 . COOH$, stellt gleichzeitig den einfachsten acidimetrischen Typus einer Aminosäure dar, den einer „zweiwertigen“ Aminosäure. Es weist im Molekül eine saure Gruppe auf, die COOH-Gruppe, und eine basische, die $NH_2$-Gruppe. Die Bestätigung der aufgestellten Theorie für diesen einfachsten Fall war sehr einfach. Ich konnte dazu die Messungsserie benutzen, die *Sörensen* ausgeführt hat, um seine Glykokoll-Standardpuffergemische zu eichen.

Die Umrechnung der Zahlenangaben *Sörensens* ist schon gezeigt worden (S. 442). Im Anschluß daran wurde auch schon die $\vartheta$-Kurve des Glykokolls besprochen. Diese zeigt, daß die Teile der Kurve.

[1]) *A. Kanitz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 476, 1906; Pflügers Arch. 118, 539.

welche der sauren und der basischen Wirksamkeit des Glykokolls entsprechen, ganz getrennt voneinander verlaufen. Mit anderen Worten, die beiden $m$-Werte sind so weit verschieden, daß praktisch eine gegenseitige Beeinflussung der beiden Spaltungen nicht eintritt (S. 450). Infolgedessen kann man an Stelle der Ampholytgleichung (XI) zweimal die einfache $\gamma$-Gleichung (III) anwenden, die lautet:

$$\vartheta = \gamma = \frac{1}{1 + \frac{[H^\cdot]}{k}}.$$

Für die basische Konstante ist $[OH']$ an Stelle von $[H^\cdot]$ einzusetzen. Es wurde schon gezeigt, daß die aus der *Sörensen*schen Versuchsreihe berechneten Werte diese Gleichung vollständig befriedigen. Damit ist die Gültigkeit der aufgestellten Theorie für den einfachsten Aminosäuretyp bewiesen.

Alle Paare zusammengehöriger Werte von $p_H$ und $\vartheta$, die man bestimmt, liefern also, wenn sie nicht zu ungünstig gewählt sind, den richtigen Wert von $k$. Man braucht also nur ein einziges solches Wertepaar zu kennen, um $k$ berechnen zu können. Auf dieser Tatsache beruht meine Methode der Konstantenbestimmung.

Die Berechnungsweise liegt auf der Hand. Man hat die oben stehende Gleichung nur nach $k$ aufzulösen:

$$k = \frac{[H^\cdot]}{\frac{1}{\vartheta} - 1}$$

und die gefundenen Werte für $[H^\cdot]$ und $\vartheta$ einzusetzen.

Ähnlich einfach wie das Glykokoll können von den untersuchten Aminosäuren alle jene behandelt werden, die nur eine saure und eine basische Gruppe aufweisen, d. h. ihre $\vartheta$-Kurven setzen sich ebenfalls aus je zwei einfachen $\gamma$-Kurven zusammen, auf welche die alte Schablone (S. 444) paßt. Das gilt außer für das Glykokoll also noch für: Alanin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin und Tryptophan (sicherlich auch für Valin und Serin).

*Glykokoll.* Für das Glykokoll schienen keine weiteren Messungen mehr nötig, da die Messungen *Sörensens* meiner Versuchsanordnung im großen ganzen entsprechen und sehr gut stimmende Resultate lieferten. Die Konstanten des Glykokolls lassen sich aus den Tabellen auf S. 442 entnehmen, auch aus der Kurve des Glykokolls (Abb. 4). Konstanten für saure Gruppen seien immer mit $k_s$, die für basische Gruppen immer mit $k_b$ bezeichnet. Für das Glykokoll ergibt sich dann:

$$\log k_s = 0{,}16 - 10; \quad \log k_b = 0{,}27 - 12;$$

oder $\quad m_s = 9{,}84; \quad m_b = 2{,}41;$

hiernach $\quad k_s = 1{,}43 \,.\, 10^{-10}; \quad k_b = 1{,}86 \,.\, 10^{-12}.$

Diese Werte der Spaltungskonstanten und die Dissoziationskonstanten $K$, die sich hieraus ergeben würden, sind etwas niedriger als die von *H. Lundén* angegebenen Dissoziationskonstanten. Dies rührt wohl in erster Linie daher, daß die Beobachtungstemperaturen verschieden sind. Im übrigen sind die angewandten Bestimmungsverfahren nicht genügend homogen, um aus dem Vergleich weitergehende Schlüsse zuzulassen.

*Das Verfahren bei der Bestimmung der Konstanten* soll nur an einem Beispiel gezeigt werden, am Isoleucin.

Das Molekulargewicht des Isoleucins, $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{C_2H_5}>CH.CH(NH_2).COOH$, ist Mg = 131,14.

1. *Bestimmung der basischen Konstanten.* Es wurden eingewogen $E = 0{,}0865$ g. $G$, die angewandte Menge in Millimolen erhält man, indem man $E$ durch Mg dividiert. Also $G = 0{,}6596$ Millimol. Die Substanz wurde in 3,5 ccm n/10 NaCl-Lösung gelöst, unter Zusatz von $t = 3{,}50$ ccm n/10 Salzsäure. Das Gesamtvolumen der Lösung war somit $v = 7{,}0$ ccm. An dieser Lösung wurde in der Gaskette die Wasserstoffstufe $p_H = 2{,}33$ gemessen.

Nun sind alle Größen bekannt, die nötig sind, um der Reihe nach (HCl), $s$, $r$, $\vartheta$ und $m_b$ bzw. $k_b$ zu berechnen. Es ist:

$$p_{(HCl)} = p_H - p_\delta = 2{,}33 - 0{,}13 = 2{,}20$$

$$\log(HCl) = -2{,}20 = 0{,}80 - 3$$

$$(HCl) = 0{,}0063 \text{ Mol/Liter}$$

$$s = v.(HCl) = 7{,}0 . 0{,}0063 \text{ ccm } 1\text{ n HCl}$$

$$s = 0{,}044 \text{ ccm } 1\text{ n HCl}$$

$$t = 0{,}350 \text{ ,, ,, ,,}$$

$$r = t - s = 0{,}306 \text{ ccm } 1\text{ n HCl}$$

$$\vartheta = \frac{r}{G} = \frac{0{,}306}{0{,}6596} = 0{,}4638$$

$$\frac{1}{\vartheta} = \frac{G}{r} = 2{,}156$$

$$m_b = p_H - \log\left(\frac{1}{\vartheta} - 1\right) = 2{,}27.$$

Mittels dieser Größe $m_b$ kann man die Kurve für die basische Gruppe des Isoleucins zeichnen. Die Konstante $k_b$ ergibt sich aus der Beziehung: $m_b = \log k_b - \log k_w$. Setzt man $\log k_w = -14{,}14$, so erhält man $\log k_b - 0{,}13 - 12$ und $k_b = 1{,}35 . 10^{-12}$.

2. *Bestimmung der Säurekonstanten.* Die Bestimmung der Säurekonstanten wurde an der nämlichen Probe vorgenommen, die schon zur Bestimmung der basischen Konstanten gedient hatte. Es war also wieder $G = 0{,}6596$ Millimol. Weiterhin war jetzt $v = 23$ ccm und $t = 3{,}375$ ccm n/10 NaOH. $p_H$ ergab sich zu 9,76. $s$ wird für diesen Fall, wie man

sich leicht überzeugen kann, verschwindend klein und kann vernachlässigt werden. Somit ist:

$$r = t = 0{,}3375 \text{ ccm } 1\,\text{n NaOH}$$
$$\vartheta = 0{,}5117$$
$$\frac{1}{\vartheta} = 1{,}955$$
$$m_s = p_H + \log\left(\frac{1}{\vartheta} - 1\right) = \mathbf{9{,}74}$$
$$\log k_s = -m_s = 0{,}26 - 10$$
$$k_s = \mathbf{1{,}82 \cdot 10^{-10}}.$$

*Mehrwertige Aminosäuren.* Bei den Aminosäuren mit mehr als insgesamt zwei Wertigkeiten, also solchen mit zwei sauren oder zwei basischen Gruppen, setzen sich die $\vartheta$-Kurven nicht immer aus einfachen $\gamma$-Kurven zusammen, sondern es treten Verschmelzungen zwischen den Kurventeilen verschiedener wirksamer Gruppen, „Acidolytgruppen", ein. Auch dieser Fall wurde im Allgemeinen Teil untersucht und in Gleichungen gefaßt. Es wurde zunächst nachgeprüft, ob sich auch die diesbezüglichen Theorien bei meiner Versuchsanordnung bestätigen.

Zu diesem Zwecke wurden die Kurven der Asparaginsäure und der Glutaminsäure näher untersucht. Die Asparaginsäure, $\alpha$-Amino-Bernsteinsäure,

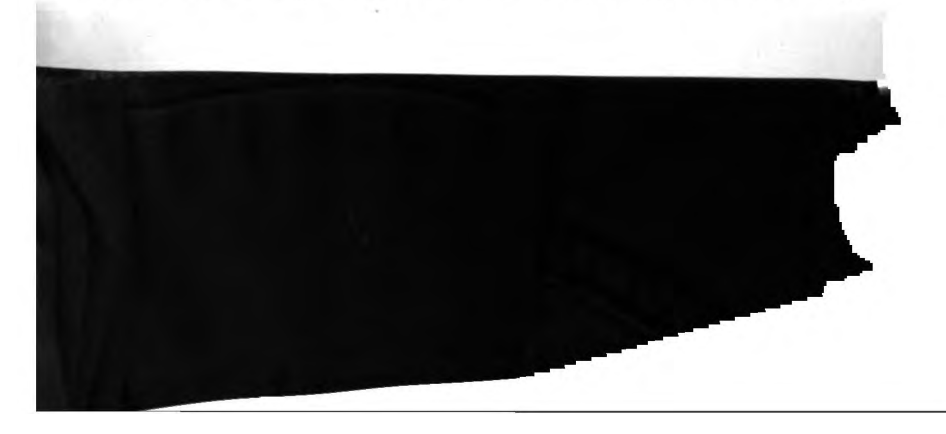
$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH(NH_2) \\ | \\ COOH \end{array}$$

besitzt, wie die Glutaminsäure, $\alpha$-Amino-Glutarsäure,

$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH(NH_2) \\ | \\ COOH \end{array}$$

zwei endständige Carboxylgruppen und in $\alpha$-Stellung zu einer derselben eine Aminogruppe.

Die Kurven dieser beiden Aminosäuren wurden zunächst großenteils ermittelt durch experimentelle Bestimmung einzelner ihrer Punkte. Hierzu wurde sowohl die kolorimetrische wie auch die potentiometrische Methode herangezogen. Sodann wurden die Spaltungskonstanten bestimmt und aus diesen mittels der hierfür aufgestellten Gleichung die Kurven neuerdings konstruiert. Die so auf verschiedenen Wegen



gewonnenen Kurven zeigen innerhalb der Fehlergrenzen vollständige Übereinstimmung. Die entwickelte Theorie wird hierdurch bewiesen und die Berechtigung ihrer Anwendung auf die Aminosäuren dargetan.

Bezüglich der Bestimmung der Konstanten der mehrwertigen Aminosäuren, die sich etwas komplizierter als bei den zweiwertigen gestaltet, muß auf die Dissertation verwiesen werden. Die gefundenen Konstantenwerte sind unten angegeben. Einige besondere Punkte sollen hier noch Erwähnung finden.

Für die Asparaginsäure gibt *H. Lundén*[1]) nur *eine* Säuredissoziationskonstante an. Es zeigt sich, daß die Asparaginsäure jedoch als zweibasische Säure reagiert. Die zweite saure Gruppe ist allerdings viel schwächer als die erste, kann aber doch noch acidimetrisch erfaßt werden; sie ist noch um eine Kleinigkeit stärker als die saure Gruppe des Glykokolls. Die Glutaminsäure verhält sich ebenso wie die Asparaginsäure.

Für das Tyrosin gibt *Lundén* ebenfalls nur *eine* Säuredissoziationskonstante an. Die Versuche ergaben jedoch, daß beim Tyrosin zwei saure Gruppen in Funktion treten. Außer der Carboxylgruppe muß also auch die phenolische Hydroxylgruppe reagieren.

Die Untersuchung des Arginins wurde durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Geh. Rat Prof. Dr. *Kossel*, Heidelberg, ermöglicht, der unserem Institut eine Probe Arginincarbonat zur Verfügung stellte, wofür ihm auch an dieser Stelle herzlicher Dank ausgesprochen sei.

*Zusammenstellung der Konstanten.* Trotzdem einige Aminosäuren noch nicht untersucht sind, geben uns die bisher gefundenen Kurven einen ganz guten Überblick über das acidimetrische Verhalten der Aminosäuren.

Die Aminosäuren, die mir nicht zur Verfügung standen und deren Kurven daher noch fehlen, sind: Valin, Serin, Lysin, Ornithin, Prolin, Oxyprolin. Das Valin verhält sich sicherlich wie die übrigen Homologen des Glykokolls, die ja untereinander große Übereinstimmung aufweisen. Die erhaltenen Aminosäurenkonstanten sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt, in Form ihrer *m*-Werte und nach diesen geordnet.

| *m* | Für die |
|---|---|
| 1,83 | basische Gruppe des Phenylalanins |
| 2,02 | „ „ der Asparaginsäure |
| 2,07 | zweite „ „ des Arginins |
| 2,12 | „ „ der Glutaminsäure |
| 2.24 | „ „ des Alanins |
| 2.27 | „ „ des Isoleucins |

[1]) l. c.

| $m$ | Für die | | | |
|---|---|---|---|---|
| 2,29 | | basische | Gruppe | des Tryptophans |
| 2,30 | | „ | „ | des Leucins |
| 2,41 | | „ | „ | des Glykokolls |
| 3,66 | erste | saure | „ | der Asparaginsäure |
| 4,09 | „ | „ | „ | der Glutaminsäure |
| 6,32 | „ | basische | „ | des Histidins |
| 7,74 | | saure | „ | des Histidins |
| 8,68 | „ | „ | „ | des Tyrosins |
| 8,85 | | „ | „ | des Tryptophans |
| 9,16 | | „ | „ | des Phenylalanins |
| 9,18 | „ | basische | „ | des Arginins |
| 9,69 | zweite | saure | „ | des Tyrosins |
| 9,74 | | „ | „ | des Isoleucins |
| 9,77 | „ | „ | „ | der Asparaginsäure |
| 9,79 | „ | „ | „ | der Glutaminsäure |
| 9,84 | | „ | „ | des Glykokolls |
| 9,84 | | „ | „ | des Leucins |
| 9,86 | | „ | „ | des Alanins |

Die aus diesen Werten gewonnenen Kurven wurden gemeinsam auf ein Kurvenblatt gezeichnet (Abb. 5). (Eine saure Gruppe ist um so stärker, je kleiner das zugehörige $m$ ist, eine basische Gruppe, je größer das zugehörige $m$ ist.)

Messungen, die zum Zwecke der Konstantenbestimmung an Cystinlösungen vorgenommen wurden, mißglückten wegen der allzu großen Verdünnung dieser Lösungen. Ich stellte nur folgendes fest: 1 Millimol Cystin bindet bei Titration auf Tropäolin-O-Umschlag 2 Millimole $NaOH$. Demnach werden die beiden Carboxylgruppen des Cystins aufgespalten. Auch die beiden $NH_2$-Gruppen vermögen zu reagieren.

Auch Tyrosin ist in Wasser schwer löslich. Ich fand die Löslichkeit des Cystins in Wasser von Zimmertemperatur zu 0,045 Proz., die des Tyrosins zu 0,113 Proz. Die Normalität der kaltgesättigten Lösung ist also bei Tyrosin 0,00623, bei Cystin 0,00187. In heißem Wasser fand ich die Löslichkeit des Cystins zu 0,104 Proz., die des Tyrosins zu 0,864 Proz.

Die Schwerlöslichkeit eines Körpers schließt seine acidimetrische Behandlung nicht aus. Sie scheint vielmehr besondere, günstige Möglichkeiten zu bieten, die eine nähere Untersuchung verdienen.

Alle bis jetzt im Eiweiß aufgefundenen Aminosäuren mit Ausnahme des Prolins und des Oxyprolins enthalten den Rest des Glykokolls: $-CH(NH_2).COOH$; also eine Carboxylgruppe, zu der in $\alpha$-Stellung sich eine Aminogruppe befindet.

Diese Analogie in der Konstitution wirkt sich dahingehend aus, daß die Basenkonstanten aller dieser Aminogruppen nahe beieinander liegen. Die gefundenen $m$-Werte liegen alle zwischen 1,83 und 2,41.



Die $\alpha$-Aminogruppen sind demnach so schwach basisch, daß ihre Aufspaltung bei $p_H = 1$ noch nicht vollständig ist. Ihre Kurven liegen

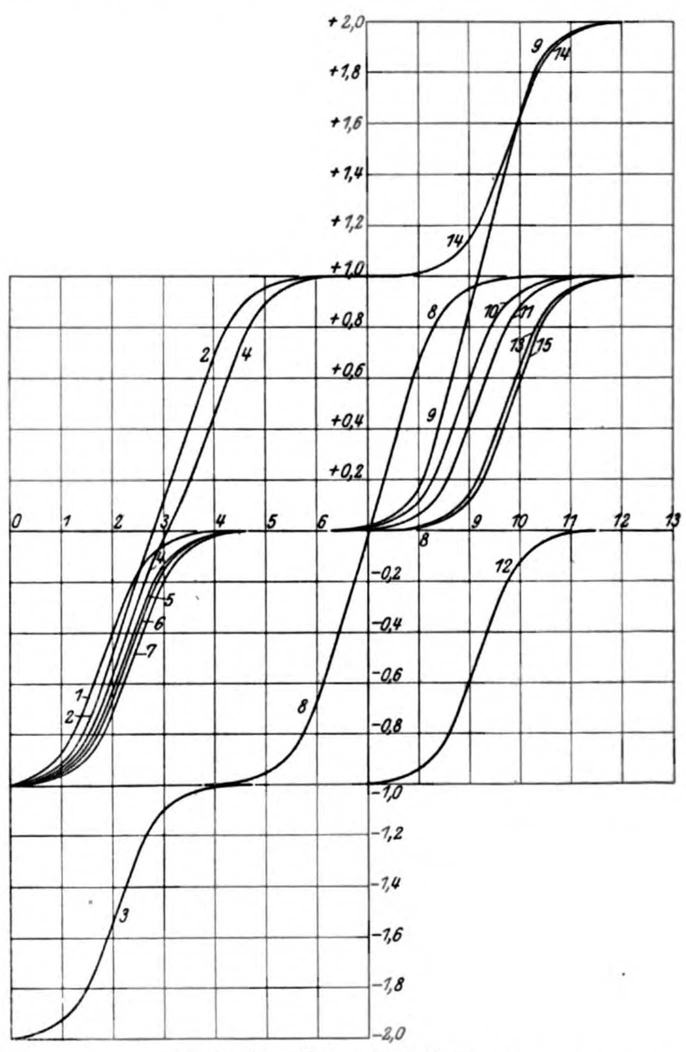


Abb. 5. Die $\mathfrak{C}$-Kurven der Aminosäuren.

1. Basische Gruppe des Phenylalanins. 2. Basische und erste saure Gruppe der Asparaginsäure. 3. Zweite basische Gruppe des Arginins. 4. Basische und erste saure Gruppe der Glutaminsäure. 5. Basische Gruppe des Alanins. Zwischen 5. und 6. liegt noch die basische Gruppe des Isoleucins. 6. Basische Gruppen von Tryptophan und Leucin. 7. Basische Gruppe des Glykokolls. 8. Erste basische und saure Gruppe des Histidins. 9. Erste und zweite saure Gruppe des Tyrosins. 10. Saure Gruppe des Tryptophans. 11. Saure Gruppe des Phenylalanins. 12. Erste basische Gruppe des Arginins. 13. Saure Gruppe des Isoleucins. 14. Zweite saure Gruppen von Asparagin- und Glutaminsäure. 15. Saure Gruppe des Glykokolls, des Leucins und des Alanins.

also gar nicht mehr vollständig in dem $p_H$-Gebiet, das für unsere $p_H$-Bestimmungsmethoden zugänglich ist. Aber auch der Teil ihrer Kurven, der in den Anwendungsbereich unserer Meßmethoden fällt, ist für eine acidimetrische Differenzierung der verschiedenen Aminosäuren nicht geeignet. Hierfür liegen die $m$-Werte der $\alpha$-Aminogruppen viel zu dicht beieinander.

Die COOH-Gruppen der oben angedeuteten Glykokollgruppierung zeigen bei den aliphatischen Monoaminosäuren, einschließlich der Monoaminodicarbonsäuren, eine noch größere Übereinstimmung in ihren $m$-Werten als die $\alpha$-Aminogruppen. Ihre $m$-Werte liegen alle nahe bei 9,80. Ihre Säurewirkung ist demnach stärker als die Basenwirkung der $\alpha$-Aminogruppen. Die ihnen zugehörigen Kurvenzüge liegen vollständig innerhalb des Anwendungsbereiches unserer $p_H$-Meßmethoden. Diese COOH-Gruppen sind also für acidimetrische Titrationen zugänglich. Eine acidimetrische Differenzierung der Monoaminosäuren läßt sich auf sie auch nicht gründen, weil die $m$-Werte zu nahe beieinander liegen.

Ringsysteme und basische Gruppen im Molekül üben auf die Carboxylgruppe der Glykokollgruppierung einen starken Einfluß aus. Am deutlichsten ist dies beim Arginin der Fall, das die stark basische Guanidingruppe enthält. Die Stärke seiner COOH-Gruppe ist so stark vermindert, daß sie ganz außerhalb unseres Meßbereiches liegt. Ebenfalls sehr abgeschwächt ist die COOH-Gruppe des Lysins, deren $m$-Wert, nach den Angaben von *Kanitz* (l. c.) zu schließen, etwa bei 12 liegen muß.

Zyklische Gruppen im Molekül verstärken die COOH-Gruppen der Glykokollgruppierung. Dies ist bei Histidin, Tryptophan und Phenylalanin zu beobachten. Von den zwei sauren Gruppen des Tyrosins kommt die eine ($m = 9{,}69$) in ihrer Stärke der des Isoleucins ($m = 9{,}74$) sehr nahe, während die andere stärker ist ($m = 8{,}68$). Welches nun von beiden die Carboxylgruppe und welches die Phenolhydroxylgruppe ist, läßt sich nicht ohne weiteres entscheiden. Die $m$-Werte der sauren Gruppen dieser vier zyklischen Aminosäuren verteilen sich auf das Intervall 7,74 bis 9,16. Zu dieser Abteilung ist auch noch die starke basische Gruppe des Arginins zu zählen ($m = 9{,}18$), deren Pufferzone in das gleiche $p_H$-Gebiet fällt.

Die getrennte acidimetrische Erfassung der sauren Gruppe des Histidins z. B. von der des Alanins, auch noch von der des Phenylalanins erscheint möglich; auch noch die Erfassung der sauren Gruppe des Tryptophans neben der des Alanins. Sind jedoch sämtliche Aminosäuren zugegen, so läßt sich auf Grund der jetzt besprochenen Acidolytgruppen keine vollständige acidimetrische Trennung erzielen. Hierfür ist die Verteilung der Gruppen über die $p_H$-Stufen zu ungünstig.



Die $m$-Werte der starken sauren Gruppen von Asparaginsäure und Glutaminsäure liegen ziemlich nahe beisammen, im übrigen aber ziemlich weit von denen aller anderen untersuchten Aminosäuren entfernt. Man kann gut eine dieser Aminosäuren neben irgend einer der übrigen bestimmen; man muß allerdings dabei einen Titrationspunkt auf einer steilen Kurvenstelle annehmen. Um z. B. Glutaminsäure neben Glykokoll zu titrieren, würde man als eine Titrationsstrecke 7,0 — 11,5 wählen, als zweite 7,0 — 3,5. Ungünstiger liegen die Verhältnisse, wenn gleichzeitig Asparaginsäure und Glutaminsäure neben allen anderen Aminosäuren vorhanden sind. Wie man in diesem Falle noch zu Ergebnissen gelangen kann, wird bei der Besprechung der Kurve für das Hydrolysengemisch des Gliadins gezeigt werden.

Am günstigsten liegt die Kurve des Histidins, dessen erste basische Gruppe noch bei Gegenwart aller anderen Aminosäuren gefaßt werden kann.

Cystin und Tyrosin wurden bei dieser Besprechung nicht berücksichtigt. Sie lassen sich auf Grund ihrer Schwerlöslichkeit leicht gemeinsam abscheiden.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß bei den angewandten Versuchsbedingungen — verdünnt-wässerige Lösung, keine besonderen Zusätze — die Verhältnisse für eine acidimetrische Zerlegung des Aminosäurengemisches ungünstig liegen. An Ergebnissen läßt sich für die Titration unter diesen Bedingungen folgendes herausschälen:

1. Sämtliche Aminosäuren können einzeln gut titriert werden.

2. Verschiedene Mischungen von Aminosäuren lassen sich acidimetrisch analysieren.

Für eine acidimetrische Zerlegung des Gesamtaminosäurengemisches liegen die Verhältnisse bei den gewählten Versuchsbedingungen nicht günstig. Die Möglichkeiten, die sich für das Gesamtaminosäurengemisch bieten, sind unter den Punkten 3., 4. und 5. angeführt.

3. Sämtliche untersuchten Aminosäuren lassen sich gemeinsam zwischen Stufe 7 und 11,5 oder 12 titrieren (von Tyrosin und Cystin würden hierbei beide sauren Gruppen gefaßt werden). Die Lösung des Aminosäurengemisches darf hierbei keine anderen Substanzen enthalten, die zwischen Stufe 7 und 12 eine Pufferwirkung ausüben (Kohlensäure z. B. kann in mineralsaurer, Ammoniak in alkalischer Lösung durch Kochen entfernt werden).

Diese Methode, die Gesamtmenge der Aminosäuren zu bestimmen, ist wohl den von *S. P. L. Sörensen*[1]) und von *R. Willstätter* und *E. Waldschmidt-Leitz*[2]) angegebenen Methoden nicht unterlegen, was

[1]) Diese Zeitschr. 7, 45, 1908.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 54, 2988, 1922.

die Einfachheit der Ausführung sowohl als auch die Klarheit der Ergebnisse betrifft.

4. Die Kurve des Histidins liegt so, daß dessen erste basische Gruppe auch bei Gegenwart aller anderen der untersuchten Aminosäuren erfaßt werden kann. Auf Grund dessen ist eine Bestimmung des Histidins in Gesamtaminosäurengemisch durch Titration von Stufe 7,0 auf Stufe 6,0 (oder umgekehrt) ausführbar. Die dabei verbrauchten Kubikzentimeter n Titerlösung werden mit $^4/_3$ multipliziert und geben dann Millimole Histidin an.

Bei Gegenwart von viel Glutaminsäure ist statt des Titrationspunktes 6,0 besser der Titrationspunkt 6,25 zu nehmen und die Titerverbrauchszahlen sind mit 2 zu multiplizieren statt mit $^4/_3$.

Diese Histidinbestimmung beruht auf der Voraussetzung, daß die Kurven der noch nicht untersuchten Aminosäuren sich nicht in den $p_H$-Bereich 6 bis 7 erstrecken. Dies könnte eventuell beim Prolin der Fall sein. Dann würde statt des Histidingehaltes eine Kennzahl für Histidin + Prolin erhalten werden.

5. Eine Kennzahl für Asparaginsäure + Glutaminsäure erhält man bei Titration des Aminosäurengemisches von Stufe 6,0 auf Stufe 4,0 (oder umgekehrt).

Die so gewonnene Kennzahl ist noch etwas abhängig von den übrigen vorhandenen Aminosäuren. Wählt man statt Stufe 4,0 die Stufe 4,5 oder gar 4,75, so wird diese Anhängigkeit stark vermindert; die Titerverbrauchszahlen werden dabei aber kleiner. Wählt man statt Stufe 4 Stufe 3,5, so werden die Titerverbrauchszahlen größer, aber ihre Abhängigkeit von den übrigen Aminosäuren wird erhöht.

---

Die angewandten Versuchsbedingungen sind nur ein Spezialfall aus einer sehr großen Mannigfaltigkeit von Möglichkeiten. Durch Zusätze, durch Veränderung des Lösungsmittels, durch Variation der Temperatur, durch chemische Veränderungen der Aminosäuren lassen sich die acidimetrischen Verhältnisse abändern. Es ist anzunehmen, daß sich hierbei weitere Möglichkeiten für die Titration der Aminosäuren auffinden lassen.

Die Analyse des Aminosäuregemisches stellt ein kompliziertes Problem dar. Die entwickelte Methode wird sich auch auf eine Reihe anderer analytischer Aufgaben anwenden lassen, und nicht alle werden so kompliziert wie das Aminosäurenproblem sein.

### *II. Untersuchung der Eiweißkörper.*

*Die $\vartheta$-Kurven für Gemische.* Wir haben gesehen, daß man für alle Acidolyte $\vartheta$-Kurven aufstellen kann: Auch für ein bestimmtes Gemisch existiert — unter gegebenen Versuchsbedingungen — eine ganz bestimmte $\vartheta$-Kurve.

Wir haben an früherer Stelle schon gesehen, daß in einem Gemisch die Spaltungsgleichgewichte der einzelnen Bestandteile unverändert gültig sind. Die von einem Gemisch bei einem bestimmten $p_H$ gebundene Titermenge ergibt sich also durch einfache Addition der von den Bestandteilen bei diesem $p_H$ gebundenen Titermengen. Ebenso ergibt sich die von dem Gemisch auf einer bestimmten Titrationsstrecke verbrauchte Titermenge durch einfache Addition der von den Bestandteilen verbrauchten Titermengen.

Solange sich die prozentuale Zusammensetzung des Gemisches nicht ändert, bleibt auch die $\vartheta$-Kurve dieselbe. Sie verändert sich, wenn das Mengenverhältnis der Bestandteile anders wird. Bei einfachen Gemischen, wie z. B. bei einem Glykokoll-Asparaginsäuregemisch, kann man aus der Gestalt der Kurve die Menge der einzelnen Bestandteile entnehmen. Aus der $\vartheta$-Kurve kann man den Titerverbrauch der Mischung für irgend eine $p_H$-Änderung ablesen. Aus zwei solchen Ablesungen kann man, genau wie aus den Angaben einer Titration (S. 457) die Menge der einzelnen Bestandteile berechnen. Aber die $\vartheta$-Kurve des Gemisches erlaubt die Titerverbrauchszahlen für jede beliebige $p_H$-Strecke abzulesen; sie besagt demnach soviel wie die Gesamtheit aller bei den gegebenen Versuchsbedingungen möglichen Titrationen.

Die $\vartheta$-Kurven von Gemischen lassen sich experimentell nach dem gleichen Verfahren gewinnen, das schon besprochen wurde: Man beobachtet so viele zusammengehörige Werte von $\vartheta$ und $p_H$, daß man zur Kurve ergänzen kann. Für die praktische Durchführbarkeit dieses Verfahrens sind noch zwei Erweiterungen vorzunehmen.

Die eine bezieht sich auf folgendes: Unter $\vartheta$ wurde oben die Titermenge verstanden, die ein Äquivalent der Mischung gebunden hält. Bei unbekannten Gemischen kann man diese Größe jedoch nicht bestimmen, da man zunächst nicht weiß, wieviel Äquivalente der Mischung vorliegen. Bestimmen kann man das Gewicht des Gemisches oder z. B. seinen Stickstoffgehalt, und kann durch diese Größen seine Menge messen.

In Lösungen von Eiweißkörpern und Eiweißspaltungsprodukten würde auch die Bestimmung des Gewichtes der gelösten Substanz große Schwierigkeiten bieten. Hingegen läßt sich der Stickstoffgehalt solcher Lösungen durch eine Kjeldahlverbrennung leicht gewinnen. Die obigen Betrachtungen über die $\vartheta$-Kurven bleiben für Gemische von stickstoffhaltigen Substanzen auch dann unverändert gültig, wenn wir unter $\vartheta$ die pro Mol Stickstoff des Gemisches gebundene Titermenge verstehen. Wir müssen dann nur auch die $\vartheta$-Werte der einzelnen Bestandteile des Gemisches auf 1 Mol Stickstoff statt auf 1 Mol Substanz beziehen. (Bei Glykokoll ist das einerlei, da 1 Mol Glykokoll auch 1 Mol Stickstoff enthält. Anders ist es z. B. beim Arginin, wo 1 Mol Substanz 4 Mole Stickstoff entsprechen.) Bei Eiweißkörpern und deren Spaltungsprodukten beziehe ich also die $\vartheta$-Werte auf 1 Mol Stickstoff.

Die zweite erforderliche Ergänzung bezieht sich ebenfalls auf die Definition von $\vartheta$. Es ist leicht, an einer Lösung die $\vartheta$-Änderung zu verfolgen, die irgend einer $p_H$-Änderung entspricht. Um jedoch den absoluten $\vartheta$-Wert für irgend ein $p_H$ angeben zu können, müßte man wissen, für welche Stufe $\vartheta = 0$ wird. Dies feststellen zu müssen, wäre oft sehr unbequem, z. B. wieder bei den Eiweißabkömmlingen.

Es ist jedoch gar nicht nötig, zu wissen, wann wirklich die gebundene Titermenge gleich Null ist. Für acidimetrische Zwecke kommt es nur auf $\vartheta$-Änderungen an. Eine Parallelverschiebung unserer Kurve nach oben oder unten ist nicht von wesentlicher Bedeutung. Wir können also den Nullpunkt für $\vartheta$ beliebig annehmen, ohne dadurch die Brauchbarkeit der $\vartheta$-Kurve zu beeinträchtigen. Ich setze bei den folgenden Versuchen $\vartheta = 0$ für $p_H = 7,0$, also für den Zustand neutraler Reaktion.

Im folgenden gibt also $\vartheta$ an, wie viele Mole Titerlösung erforderlich wären, um eine Menge der betreffenden Substanz, die 1 Mol Stickstoff enthält, von dem Zustand neutraler Reaktion auf die betreffenden $p_H$-Stufen zu bringen (positive Werte geben NaOH-Mengen, negative geben HCl-Mengen an).

Zusammenfassend kann gesagt werden: Die $\vartheta$-Kurven von Gemischen hängen auf einfache Weise von der Art und Menge der Bestandteile ab. Sie geben die Gesamtheit der unter den betreffenden Versuchsbedingungen möglichen Titrationen wieder. In günstigen Fällen kann man aus ihnen das Mengenverhältnis der Bestandteile des Gemisches entnehmen. Die Feststellung der $\vartheta$-Kurve ist die geeignetste Form, um das acidimetrische Verhalten irgend einer Lösung für gegebene Versuchsbedingungen kennenzulernen.

*Das Produkt der vollständigen Eiweißhydrolyse.* Unterwirft man einen Eiweißkörper der vollständigen Hydrolyse, so erhält man ein Gemisch von Aminosäuren. Bei verschiedenen Eiweißarten ist die Zusammensetzung dieses Hydrolysengemisches verschieden. Es ist demnach zu erwarten, daß sich für die Hydrolysengemische verschiedener Eiweißkörper verschiedene $\vartheta$-Kurven ergeben. Um einige solcher Kurven kennenzulernen, wurden diejenigen für Gelatine, Hühnereieralbumin und Weizengliadin ermittelt. Die Eiweißkörper wurden durch 20stündiges Kochen mit konzentrierter Salzsäure hydrolysiert. In aliquoten Teilen der resultierenden Flüssigkeiten wurde der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Sodann wurden Proben der Lösungen mit verschiedenen, gemessenen Mengen Natronlauge versetzt und der potentiometrischen $p_H$-Messung unterzogen. Aus den erhaltenen Zahlen wurden die Werte für $\vartheta$ berechnet und aus diesen die $\vartheta$-Kurven gezeichnet. Sie sind nebenstehend wiedergegeben. Die Gewinnung einer solchen Kurve soll im letzten Abschnitt noch an Hand eines Beispiels gezeigt werden.

An drei Hydrolysenlösungen, die aus drei verschiedenen Gelatinemengen gewonnen worden waren, wurde ein und dieselbe $\vartheta$-Kurve gefunden. Das besagt, daß tatsächlich dem Hydrolysengemisch eines bestimmten Proteins eine ganz bestimmte $\vartheta$-Kurve zukommt.

Die endgültige *Beurteilung* der jetzt gewonnenen Kurven von Hydrolysengemischen ist eigentlich noch nicht möglich, weil die Kurven einiger Aminosäuren noch nicht bekannt sind. Trotzdem kann schon





jetzt gezeigt werden, welcher Art die Schlüsse sind, die sich aus den Kurven durch Vergleichung mit den Aminosäurenkurven (Abb. 6) entnehmen lassen.

Der ganze Bau der Kurven drängt zu einer Scheidung in zwei Äste, einen links und einen rechts der Achse $p_H = 7{,}0$; anders ausgedrückt, in einen Ast für saure Lösungen und einen für alkalische Lösungen.

Ich beginne mit der Betrachtung des sauren Astes der Kurven. Es sei einmal angenommen, statt des Hydrolysengemisches hätte eine

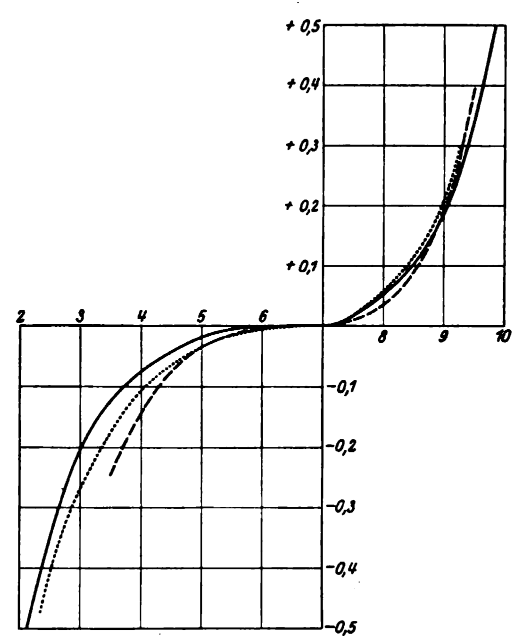



Abb. 6. Kurven von Eiweißhydrolysengemischen, d. h. von den Produkten der vollständigen Hydrolyse mit Salzsäure aus ——— Gelatine (—), ··········· Albumin (—), — — — Gliadin (—).

Glykokollösung von gleichem Stickstoffgehalt vorgelegen. Dann hätte sich die Glykokollkurve ergeben müssen. Wir wollen nun überlegen, wie sich die Glykokollkurve ändern müßte, wenn das Glykokoll in verschiedenem Ausmaße durch andere Aminosäuren ersetzt würde, immer so, daß die Gesamtstickstoffmenge die gleiche bliebe. Da wir die Kurven auf den Stickstoffgehalt beziehen, ist nur ein solcher Ersatz gleichwertig.

Die $\alpha$-Aminogruppe des Glykokolls besitzt von den $\alpha$-Aminogruppen sämtlicher Aminosäuren den höchsten $m$-Wert: 2,41. Von den Kurvenzügen der $\alpha$-Aminogruppen liegt also der für das Glykokoll am weitesten rechts. Von den $\alpha$-Aminogruppen kommt somit für ein bestimmtes $p_H$ stets der des Glykokolls der höchste Salzsäureverbrauch zu. Eine Erhöhung des absoluten Betrages der $\vartheta$-Werte (d. h. wenn

man vom negativen Vorzeichen absieht) des sauren Astes der Glykokollkurve kann daher niemals dadurch bewirkt werden, daß die $\alpha$-Aminogruppe des Glykokolls durch die einer anderen Aminosäure ersetzt wird.

Die $\vartheta$-Werte, immer absolut genommen, des sauren Astes der Glykokollkurve können vielmehr nur dadurch erhöht werden, daß an Stelle des Glykokolls Aminosäuren mit solchen Acidolytgruppen eintreten, deren $m$-Werte zwischen 2,41 und 7,0 liegen. Davon kommen von den untersuchten Aminosäuren nur die Monoaminodicarbonsäuren und das Histidin in Betracht.

Die Dicarbonsäuren erhöhen den Kurvenast in erster Linie zwischen den Stufen 5 und 3, das Histidin zwischen 7,0 und 5,0.

Tritt an Stelle des Glykokolls eine andere Aminosäure als die genannten ein, so müssen immer die $\vartheta$-Werte des sauren Kurvenastes erniedrigt werden. Auf welche Weise diese Erniedrigung im Einzelfalle stattfindet, ist nun leicht herzuleiten.

Über den alkalischen Ast der Kurve lassen sich ganz entsprechende Betrachtungen anstellen.

Bemerkenswert ist, daß sich im alkalischen Gebiete leicht eine Gesamttitration der Aminosäuren ausführen läßt, zwischen 7,0 und 11,5 oder 12. Da bei dieser Titration auch die mehr als ein Stickstoffatom enthaltenden Moleküle von Arginin, Lysin, Histidin und Tryptophan je ein Molekül Titer verbrauchen, wird diese Titration einen Anhalt für die Menge dieser Aminosäuren bieten können.

Nun soll noch ein Beispiel für die zahlenmäßige Auswertung der Kurven gezeigt werden.

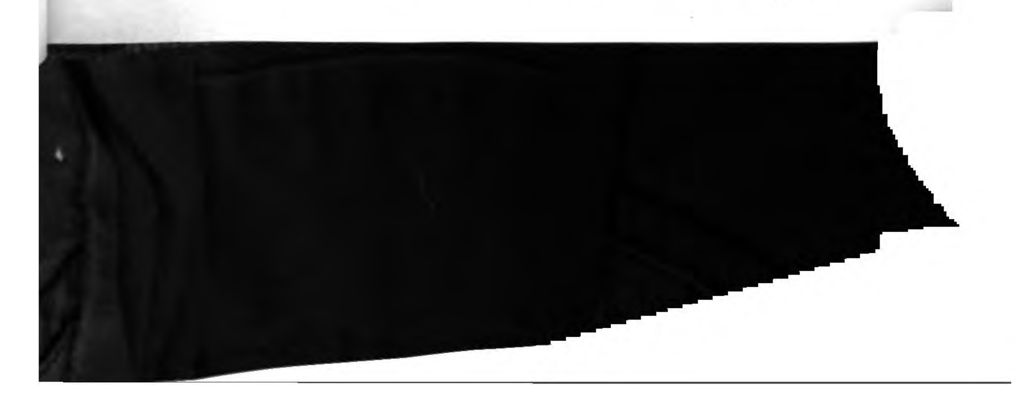
Die Kurve für das Hydrolysengemisch des Gliadins zeigt im Gegensatz zur Glykokollkurve zwischen Stufe 5 und Stufe 3 eine starke $\vartheta$-Änderung. Diese kann von den untersuchten Aminosäuren nur durch die Monoaminodicarbonsäuren bewirkt werden.

Die folgende Übersicht bringt einige $\vartheta$-Änderungen der Kurve, gerechnet von $p_H = 7{,}0$ bis zu $p_H$-Werten der genannten Zone, ohne Rücksichtnahme auf das Vorzeichen.

Diesen Werten aus der Kurve sind die entsprechenden $\vartheta$-Änderungen gegenübergestellt, die reiner Asparaginsäure und reiner Glutaminsäure zukommen würden.

| Von $p_H = 7{,}0$ bis $p_H$ | $\vartheta$-Änderung | | |
|---|---|---|---|
| | Aus der Kurve | für reine Asparaginsäure | für reine Glutaminsäure |
| 4,75 | 0,052 | 0,075 | 0,177 |
| 4,50 | 0,075 | 0,130 | 0,280 |
| 4,25 | 0,102 | 0,210 | 0,410 |
| 4,00 | 0,145 | 0,320 | 0,541 |
| 3,75 | 0,190 | 0,460 | 0,702 |
| 3,50 | 0,245 | 0,620 | 0,835 |





Die Tabelle gibt beispielsweise an, daß für $p_H = 4{,}50$ die $\vartheta$-Änderung 0,130 wäre, wenn das Gemisch nur aus Asparaginsäure bestände; oder besser, wenn der gesamte vorhandene Stickstoff als Asparaginsäurestickstoff vorläge. Hiernach kann man ausrechnen, wieviel Asparaginsäure das Hydrolysengemisch enthalten müßte, wenn seine $\vartheta$-Änderung für $p_H = 4{,}50$, die 0,075 beträgt, allein auf ihrem Asparaginsäuregehalt beruhen würde. Es ergibt sich, daß dann der Anteil der Asparaginsäure an Gesamtstickstoff $\frac{0{,}075}{0{,}130} = 0{,}577$ betragen würde oder 57,7 Proz. Mehr Asparaginsäure kann im Hydrolysengemisch keinesfalls vorhanden sein, denn sonst müßte die $\vartheta$-Änderung größer sein.

Auf diese Weise können nun aus den Werten obiger Übersicht für die verschiedenen $p_H$-Stufen Maximalwerte der Beteiligung der Asparaginsäure und der Glutaminsäure berechnet werden. Dabei ergeben sich folgende Zahlen:

Maximale Beteiligung am Gesamtstickstoff in Prozenten.

| Für $p_H$ = | Asparaginsäure | Glutaminsäure | Für $p_H$ = | Asparaginsäure | Glutaminsäure |
|---|---|---|---|---|---|
| 4,75 | 69,3 | 29,4 | 4,00 | 45,3 | 26,8 |
| 4,50 | 57,7 | 26,8 | 3,75 | 41,3 | 27,1 |
| 4,25 | 48,6 | 26,8 | 3,50 | 39,6 | 27,7 |

Da keine dieser Zahlen von dem wirklichen Gehalt überschritten werden kann, resultieren jetzt also als Maximalwerte für Asparaginsäure 39,6 Proz., für Glutaminsäure 26,8 Proz. Sind gleichzeitig beide Säuren zugegen, dann reduzieren sich die Maximalwerte für die einzelnen noch weiter. Der höhere Wert für Asparaginsäure gibt vorläufig auch einen Maximalwert für die Beteiligung der Monoaminodicarbonsäuren insgesamt an.

Ich nehme nun an, daß beim Hydrolysengemisch des Gliadins zwischen 7,0 und 3,5 sich keine weiteren Aminosäuren merklich am Titerverbrauch beteiligen. Um das genau festzustellen, müßte man erstens auch die noch fehlenden Aminosäurenkurven kennen; zweitens müßte man noch eingehendere Messungen am Hydrolysengemisch anstellen. Jedenfalls kann man aber sagen, daß eine eventuelle Beteiligung anderer Aminosäuren unbeträchtlich ist.

Die Kurve der Glutaminsäure ist bei den betrachteten $p_H$-Werten flacher als die der Asparaginsäure. Wir fassen nun die bei Stufe 4,50 gefundene Maximalzahl 26,8 Proz. für Glutaminsäure ins Auge. Wenn von den beiden Monoaminodicarbonsäuren nur die Glutaminsäure zugegen ist, muß diese Maximalzahl den wirklichen Glutaminsäuregehalt angeben und wir müssen bei den übrigen Kurvenstellen, an denen die Glutaminsäure allein wirksam ist, die gleichen Maximalwerte finden;

dies ist auch bis zu Stufe 3,75 tatsächlich der Fall. Wäre hingegen ein Teil als Asparaginsäure vorhanden, dann müßte die Kurve steiler sein und bei Stufe 3,75 z. B. müßte die Maximalzahl für Glutaminsäure größer als bei 4,50 sein.

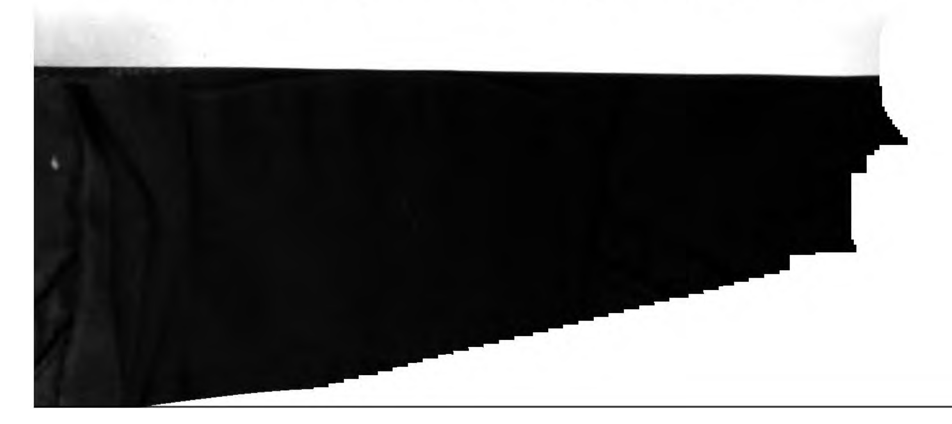
Aus den gefundenen Zahlen ist also zu schließen, daß im Hydrolysengemisch des Gliadins Asparaginsäure nicht in beträchtlicher Menge vorkommt und daß sich die Glutaminsäure mit 26,8 Proz. am Gesamtstickstoff beteiligt.

Diese Betrachtungen sollen keine endgültigen Resultate darstellen, sie sollen nur zeigen, auf welche Weise die Kurven solcher Gemische ausgewertet werden können. Die endgültige Beurteilung der Kurve ist erst dann möglich, wenn die Kurven der sämtlichen einzelnen Aminosäuren bekannt sind. Zu diesem Zwecke müssen außerdem die Kurven der Hydrolysengemische noch eingehender untersucht werden. Sie können bei geeigneter Wahl der Mengenverhältnisse noch mit größerer Genauigkeit festgestellt werden.

Der Hauptzweck dieser Versuche war jedoch ein anderer: es sollte festgestellt werden, ob eine Unterscheidung der verschiedenen Eiweißkörper auf Grund derartiger Kurven möglich ist. Die gezeichneten Kurven führen zu dem Schluß, daß dies der Fall ist.. Bei Stufe 4,0 z. B. zeigt die Kurve für Gelatine den Wert $\vartheta = -0{,}075$, die für Albumin den Wert $\vartheta = -0{,}105$, die für Gliadin den Wert $\vartheta = -0{,}145$. Von den drei Eiweißarten möge nun je so viel angewandt werden, als 10 Millimolen Stickstoff = 0,140 g entspricht, das ist je etwa 1 g Eiweiß. Dann würden bei Titration der Hydrolysengemische von 7,0 auf 4,0 folgende Mengen Salzsäure verbraucht: Von der Gelatine 7,5 ccm n/10; vom Albumin 10,5 ccm n/10; vom Gliadin 14,5 ccm n/10. Das sind deutliche Unterschiede, die sich durch einfache Indikatorentitration leicht feststellen lassen. Es darf also gesagt werden, daß die *$\vartheta$-Kurven der Hydrolysengemische eine Charakterisierung der Eiweißkörper ermöglichen.*

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß eine Variation der Versuchsbedingungen für die Titration der Aminosäuren viele weitere Möglichkeiten bietet. Das gleiche gilt natürlich auch für die Kurven der Hydrolysengemische. Man wird dann eventuell einerseits aus ihnen mehr über die Zusammensetzung der Gemische erfahren, andererseits werden sie vielleicht noch besser zur Charakterisierung verschiedener Eiweißarten geeignet sein.

*Unverseifte Eiweißkörper.* Auf die gleiche Weise wie für die Hydrolysengemische wurden auch für einige unverseifte Eiweißkörper die $\vartheta$-Kurven festgestellt, für Albumin, Gliadin und Casein. Ob die angewandten Präparate einen scharf definierten und leicht wiederholbaren Zustand dieser Eiweißkörper darstellten, soll jetzt dahingestellt bleiben.



Es sollten auch nicht die Kurven der drei Proteine endgültig festgestellt werden, es sollte nur das Verhalten der Kurven von Eiweißkörpern überhaupt studiert werden. Proben der drei Substanzen wurden in n/10 NaOH gelöst und verdünnt. In den erhaltenen Lösungen wurde wieder der Stickstoffgehalt bestimmt und zur Gewinnung von $\vartheta$-Werten genau wie bei den Hydrolysengemischen verfahren. Die erhaltenen Kurven sind abgebildet.

Die Ausflockungszone, an die sich die Messungen von beiden Seiten her annäherten, ist bei den Kurven ausgespart.

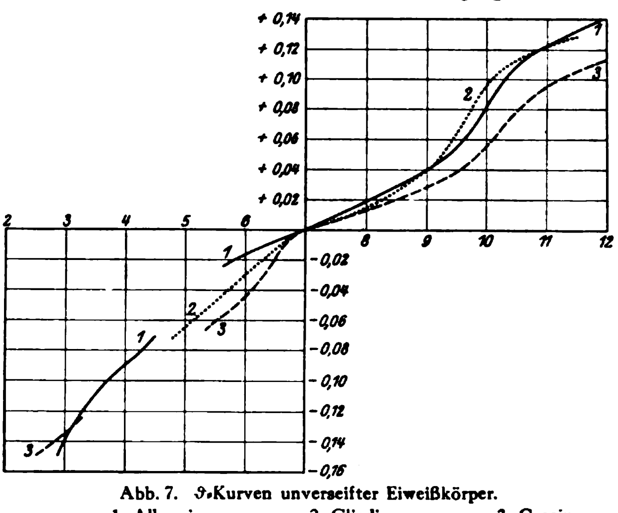



Abb. 7. $\vartheta$-Kurven unverseifter Eiweißkörper.
——— 1. Albumin. ·········· 2. Gliadin. — — — 3. Casein.

Aus den Kurven der drei Eiweißkörper ist zu schließen, daß mit steigendem $p_H$ fortschreitend immer mehr saure Gruppen des Eiweißmoleküls erschlossen werden. Für die basischen Gruppen gilt das analoge. Schon zwischen dem Ausflockungsgebiet und Stufe 7,0 treten Acidolytgruppen in Wirksamkeit; von den drei untersuchten Beispielen am meisten beim Casein. Die $m$-Werte dieser Gruppen liegen zwischen 5 und 7. Bei Stufe 12 scheint ein Maximum der Laugebindung noch nicht erreicht zu sein. Man begegnet in der Literatur der Auffassung, man könne die Säurewirksamkeit eines Eiweißkörpers durch eine einzige Konstante charakterisieren. Diese Ansicht ist demnach irrig.

Man kann vielleicht durch die $\vartheta$-Kurven auch Aufschlüsse über den Bau der Eiweißkörper erhalten. Beim Casein beträgt beispielsweise zwischen Stufe 5,13 und Stufe 12,1 die Gesamt-$\vartheta$-Änderung 0,180. Auf 100 Stickstoffatome des Caseins treffen also wenigstens 18 wirksame saure Gruppen. Die Anzahl der sämtlichen >CO-Gruppen des Eiweißmoleküls, die nach vollständiger Hydrolyse als COOH-Gruppen vorliegen, ist ungefähr ebenso groß wie die der N-Atome. Nimmt

man nun an, daß die sauren Wirkungen des Eiweißmoleküls, abgesehen von wenigen etwaigen phenolischen Hydroxylgruppen, durch die $>$CO-Gruppen bedingt sind, so kommt man zu dem Schluß, daß beim Casein wenigstens 18 Proz. der $>$CO-Gruppen zu reagieren vermögen.

Es ist ferner anzunehmen, daß die sauren und basischen Wirkungen des Proteinmoleküls von gewissen Atomgruppierungen getragen werden, die bei den verschiedenen Eiweißarten wiederkehren. Wahrscheinlich kommen den verschiedenen, typischen Atomgruppierungen bestimmte Konstantenwerte zu. Wenn diese bekannt wären, ließe die $\vartheta$-Kurve Schlüsse zu über Art und Menge der sauer und der basisch wirksamen Atomgruppen des Eiweißmoleküls.

Die Unterschiede zwischen den Kurven der verschiedenen Eiweißarten sind, nach den drei untersuchten Stichproben zu urteilen, beträchtlich. *Die $\vartheta$-Kurven unveränderter Eiweißkörper erscheinen daher zu deren Charakterisierung geeignet.*

Ebenso wie beim Aminosäurengemisch ergibt sich auch hier durch Variation der Versuchsbedingungen eine große Menge neuer Möglichkeiten.

Es wurden hier Kurven gezeichnet für unverseifte Eiweißkörper und für das Produkt ihrer vollständigen Hydrolyse mit Salzsäure. Das sind nur zwei Spezialfälle einer neuen Schicht von Möglichkeiten. Für jedes beliebige, irgendwie erreichte Stadium im Abbau eines Eiweißkörpers kann man genau so wie für die behandelten Fälle eine $\vartheta$-Kurve ermitteln. Man kann die Veränderung der Kurve mit fortschreitendem Abbau studieren. Man kann die Proteine auch irgendwelchen anderen Vorbehandlungen unterziehen und dann auf charakteristische Kurven hin untersuchen.

Es wäre verwunderlich, wenn sich mit der großen Zahl der verfügbaren Möglichkeiten nicht sehr weitgehende Unterscheidungen zwischen den Eiweißkörpern auffinden ließen.

## Anhang.

### *Beispiel für die Ermittlung einer $\vartheta$-Kurve.*

Die Gewinnung der Konstanten und $\vartheta$-Kurven einfacher, chemisch genau bekannter Substanzen ist wohl genügend erörtert (S. 443, eingehenderes siehe Dissertation).

Ganz allgemein lassen sich die $\vartheta$-Kurven gewinnen durch experimentelle Ermittlung einer Reihe einzelner Punkte. Dieses Verfahren ist z. B. auch auf Eiweißlösungen und auf unbekannte Gemische anwendbar. Es soll an einem Beispiel demonstriert werden.

Etwa 6 g reinster Gelatine wurden durch 20stündiges Kochen mit konzentrierter Salzsäure am Rückflußkühler hydrolysiert. Das Reaktionsprodukt wurde auf dem Wasserbade eingedampft, mit destilliertem Wasser wieder aufgenommen, filtriert und auf 200 ccm aufgefüllt. Die so erhaltene Flüssigkeit stellte die Lösung eines Aminosäuregemisches unbekannter

Zusammensetzung dar. Für dieses Hydrolysenprodukt sollte die $\vartheta$-Kurve ermittelt werden.

Zu diesem Zwecke wurde in einer Probe der Lösung nach *Kjeldahl* der Stickstoffgehalt bestimmt. Er ergab sich zu 1,425 Millimol in je 5 ccm. Sodann wurden in sechs Reagenzgläser je 5 ccm der Lösung abpipettiert. Zu diesen Proben wurden aus einer Bürette verschiedene, gemessene Mengen halbnormaler NaOH gegeben; und zwar zu

| Probe | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0,0 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,5 ccm. |

Nach dem Durchmischen wurden diese Proben der potentiometrischen $p_H$-Messung unterzogen. Es ergaben sich folgende $p_H$-Werte:

1,47 2,09 2,95 8,68 9,82 11,98.

Probe 1 ergab $p_H = 1,47$, war also noch stark sauer wegen der HCl, die von dem Hydrolysengemisch beim Abdampfen zurückgehalten worden war. Die Messungsergebnisse sind weiter unten in einer Tabelle zusammengestellt. Die Werte für die Probe 1 und 6 erwiesen sich bei der Umrechnung als unbrauchbar, weil außerhalb des Anwendungsbereiches der Methode liegend, und werden vernachlässigt.

Bei einer zweiten Messungsserie wurde die Abstufung der NaOH-Mengen so gewählt, daß Zwischenwerte an jenen Stellen der ersten Messungsserie erhalten wurden, wo sie am wünschenswertesten erschienen. Die Auswertung der gefundenen Zahlen zeigt die folgende Tabelle:

| $p_H$ | $t$ | $v$ | $r$ | $\vartheta'$ | $\vartheta$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 2,09 | 1,00 | 12 | 1,10 | 0,386 | —0,527 |
| 2,95 | 2,00 | 14 | 2,01 | 0,706 | —0,207 |
| 4,13 | 2,40 | 34 | 2,04 | 0,842 | —0,071 |
| 6,53 | 2,60 | 36 | 2,60 | 0,912 | —0,001 |
| 8,33 | 2,80 | 38 | 2,80 | 0,982 | + 0,069 |
| 8,68 | 3,00 | 16 | 3,00 | 1,052 | + 0,139 |
| 9,30 | 3,40 | 16,8 | 3,40 | 1,193 | + 0,280 |
| 9,82 | 4,00 | 18 | 4,00 | 1,404 | + 0,491 |

$p_H$ ist die an der Mischung gemessene Wasserstoffstufe. $t$ gibt die zu 10 ccm Lösung gefügte Menge NaOH in Kubikzentimeter n/1 an. $v$ ist das dabei erreichte Volumen in Kubikzentimetern. Aus diesen Zahlen wurde nun (nach S. 464) $s$ berechnet, unter Beachtung des Vorzeichens. Die gebundene Titermenge $r$ ergab sich dann als $r = t - s$; $r$ ist in Kubikzentimeter n/1 angegeben. $\vartheta'$ wurde als $r/a$ berechnet. Es gibt also an, wieviel Mole NaOH pro Mol Stickstoff verbraucht wurden, vom Anfangszustand der Lösung an gerechnet. $\vartheta$ soll jedoch auf den Zustand neutraler Reaktion bezogen werden. Zu diesem Zwecke wurde anhand einer graphischen Skizze festgestellt, für welchen Wert von $\vartheta'$ der Fall $p_H = 7,0$ eingetreten wäre. Es ergab sich: bei $\vartheta' = 0,913$. Ich setze nun also: $\vartheta = \vartheta' - 0,913$, womit das Gewünschte erreicht ist.

$\vartheta$ gibt jetzt an, wieviel Mole NaOH pro Mol Stickstoff verbraucht worden wären, wenn man von dem Zustand $p_H = 7,0$ ausgegangen wäre.

Die $\vartheta$-Werte dieser Tabelle wurden zu den zugehörigen $p_H$-Werten auf ein Kurvenblatt eingetragen. Sie ergaben einen Kurvenzug. Die $\vartheta$-Werte aus zwei weiteren Lösungen, die auf gleiche Weise aber aus anderen Gelatinemengen erhalten wurden, ordneten sich in den gleichen Kurvenzug ein, der, zur Linie ausgezogen, die $\vartheta$-Kurve des Gelatine-Hydrolysengemisches darstellt.

# Untersuchungen einiger hochmolekularer Elektrolyte mit Hinsicht auf ihre Bedeutung in der Zelle.

Von

**Harald Hammarsten.**

(Aus der physiologisch-chemischen Abteilung des Karolinischen Instituts zu Stockholm.)

*(Eingegangen am 19. März 1924.)*

Mit 18 Abbildungen im Text.

## Einleitung.

Die Zelle ist aus Stoffen aufgebaut, die nach bekannten chemischen und physikalischen Gesetzen reagieren. Viele von ihnen sind zwar wenig untersucht und ihrer Konstitution nach unbekannt. Die Ursache dafür ist vor allem der komplizierte Bau vieler Zellbestandteile. Dieser kann aber kaum prinzipiell unbezwingbare Hindernisse für die chemische Erforschung bieten. Man dürfte deshalb behaupten, daß die Lebensäußerungen der Zelle vollkommen bestimmte Funktionen der chemischen Eigenschaften dieser Stoffe sind. Die Kenntnis der rein chemischen Eigenschaften und der Konstitution genügen aber nicht, um einen Einblick in das Leben der Zelle zu geben. Diffusions- und Osmoseverhältnisse, Dissoziationszustand — besonders der Gehalt an Wasserstoffionen —, Hydratation und andere Gleichgewichte, welche den Zustand der Zelle in mancher Hinsicht bestimmen, sind Faktoren, auf deren Studium man sich einrichten muß, um bei der Erforschung der Lebensbedingungen der Zelle weiter zu kommen.

Die Untersuchung der Eiweißkörper in dieser Hinsicht ist bekanntlich schon sehr weit geführt. Von einer besonderen Bedeutung für das Leben der Zelle müssen aber solche Stoffe sein, die leicht an chemischen und physikalischen Vorgängen teilnehmen, und eine derartige „Aktivität" zeigen ja die starken Elektrolyte in sehr hohem Grade. Die Eiweißstoffe des Protoplasmas sind aber in erster Annäherung neutrale Ampholyte und bei annähernd neutraler Reaktion äußerst schwache Elektrolyte, während im Zellkern immer relativ starke Säuren, die Nucleinsäuren, und bisweilen auch ausgeprägt basische Eiweißstoffe, z. B. Histon und Protamin, vorkommen. Die Kenntnis der Ionenreaktionen dieser hochmolekularen, ausgeprägten

Elektrolyte ist also eine notwendige Voraussetzung für die Erforschung der Lebensprozesse in den Zellkernen.

Diese hochmolaren Elektrolyte verhalten sich in vielen Hinsichten ganz wie anorganische Elektrolyte, eigentümliche Abweichungen können aber nachgewiesen werden.

Dies gilt z. B. von der Thymonucleinsäure, einer der wichtigsten Bausteine des Zellkerns. Diese Säure ist nach *Steudel* (1) vierbasisch. Eine gute Auffassung der Stärke wurde erhalten, seitdem es *E. Hammarsten* (2) gelungen ist, die Dissoziationskonstanten der Säure mit ziemlich großer Genauigkeit zu messen. Nach diesem Verfasser sind für die Thymonucleinsäure $k_1 = 4{,}3 \,.\, 10^{-3}$, $k_2 = 2{,}2 \,.\, 10^{-4}$. Eine so starke Säure muß sehr großes Reaktionsvermögen haben. Die Salze müssen in Wasserlösung stark dissoziiert sein und sollten einen großen und nach *Donnans* Gesetz für die kleinsten Veränderungen in den Ionenkonzentrationen sehr empfindlichen osmotischen Druck geben. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser Säure sind von *E. Hammarsten* (2) eingehend untersucht worden.

Große Schwierigkeiten sind aber mit den Untersuchungen dieser Säure verbunden. Ihre Zusammensetzung ist kompliziert, Molekulargewicht (etwa 1400) und Konstitution sind nicht sicher festgestellt. Eine mathematische Behandlung der Resultate wird deshalb in vielen Fällen unmöglich. Die Säure ist weiter in Wasser nur als kolloide Suspension löslich. Die oben angeführten Dissoziationskonstanten sind deshalb „scheinbare“. Weiter ist z. B. das vierbasische Natriumsalz in Wasserlösung teilweise aggregiert und gewaltig hydratisiert, was das Leitvermögen des Salzes stark beeinflußt und somit die Deutung der Resultate erschwert.

Es wäre deshalb für ein vollständigeres Verstehen der Rolle der Nucleinsäuren in den Zellen sehr wünschenswert, noch eine derartige Säure zu untersuchen, die auch in bezug auf Konstitution und Molekulargewicht sicher bestimmt ist und sich in Wasser molekulardispers auflöst.

Eine Nucleinsäure, die sich für eine solche Untersuchung eignet und sogar die aufgestellten Forderungen wohl erfüllt, ist die von *Bang* (3) zuerst gefundene, von *Steudel* (4), *Feulgen* (5) und anderen näher untersuchte Guanylsäure ($C_{10}H_{14}O_8N_5P = 363{,}2$). Eine Untersuchung dieser Säure erhält auch dadurch biologisches Interesse, weil es nicht unmöglich ist, daß sie als selbständiges Mononucleotid in der Zelle vorkommen kann, z. B. in Pankreas, und nicht nur ein künstliches Abbauprodukt anderer Nucleinsäuren darstellt[1]). Ein ganz besonderes Interesse muß die Untersuchung durch Vergleichung mit den Resultaten über Thymonucleinsäure von *E. Hammarsten* erhalten.

---

[1]) Die Meinungen hierüber sind verschieden (4) bis (6).

Diese Säure verhält sich in vielen Hinsichten, z. B. in bezug auf den osmotischen Druck, abnorm, indem der Druck niedriger ist als der für nur die H-Ionenkonzentration berechnete. Die vorliegende Untersuchung wird zeigen, daß Guanylsäure in denselben Hinsichten völlig normal ist. Diese Verschiedenheit der beiden Säuren läßt sich mit Wahrscheinlichkeit wenigstens teilweise auf ihre verschiedenen Molekulargrößen zurückführen.

Um einen tieferen Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen, würde es am nächsten liegen, Nucleinsäuren mit Molekulargrößen zwischen den beiden genannten zu untersuchen. Eine mit nicht zu großer Schwierigkeit zugängliche Nucleinsäure von dieser Eigenschaft, die sich in übrigen Hinsichten für eine physikalisch-chemische Untersuchung eignet, gibt es, so viel ich weiß, nicht, und um die Sache verfolgen zu können, mußte ich deshalb zu anderen Körperklassen übergehen.

Ich habe dann als geeignete Substanzen die in gewissen Zellen vorkommenden basischen Eiweißkörper Histon und Protamin und die beiden Gallensäuren Glykochol- und Taurocholsäure für die Untersuchung gewählt.

### 1. Bereitung der Guanylsäure.

*Darstellung des sekundären Natriumsalzes der Guanylsäure in reinem Zustande.*

Als Ausgangsmaterial diente hefenucleinsaures Natrium, von der chemischen Fabrik „Astra“ (Södertälje) bezogen. Aus dem Na-Salze der Hefenucleinsäure kann man nach *Steudel* und *Peiser* (4) guanylsaures Natrium durch eine einfache Ausfällung mit Natriumacetat gewinnen. Als ich eine Lösung des genannten Präparats nach ihrer Vorschrift bis zu einer Konzentration von 20 g auf 100 ccm mit Natriumacetat versetzte, entstand gar keine Fällung. Erst bei einem Acetatgehalt von 50 Proz. schied sich eine klebrige Masse aus, die aber nicht aus guanylsaurem Natrium bestand. In meinem Präparat konnte die Guanylsäure deshalb nicht frei vorkommen, aber es zeigte sich, daß man sie daraus durch Hydrolyse leicht gewinnen konnte. Durch Vorversuche fand ich folgendes Verfahren, das die bestmögliche Ausbeute gab. (Wie ich in einer nach meiner Präparation erschienenen Publikation gefunden habe, haben auch *Steudel* und *Peiser* (6) bei späteren Versuchen ihr Präparat zuerst hydrolysieren müssen.)

Portionen von 200 g hefenucleinsaurem Natrium wurden in je 900 ccm Wasser mit Hilfe einer Schüttelmaschine gelöst, dann 235 g festes, kristallisiertes Natriumacetat und in dünnem Strahl konzentrierte Natronlauge unter stetigem Umrühren zugesetzt, bis die Lösung 5 Proz. NaOH enthielt. In einem im voraus erwärmten Autoklaven wurde die Mischung nun 30 Minuten bei 100° (Celsius) hydrolysiert, dann rasch gekühlt und bei einer Temperatur von nicht über 10° die Natronlauge unter stetigem

Umrühren mit 40proz. Essigsäure neutralisiert. Es wurde mehr Essigsäure verbraucht, als die berechnete, gegen die Natronlauge äquivalente Menge, weshalb die Lösung einfach zu derselben Reaktion auf neutralem Lackmuspapier wie die einer Natriumacetatlösung gebracht wurde. Auf diese Weise wurde die entstandene Guanylsäure möglichst schonend abgespalten. Das sekundäre Natriumsalz fiel schon beim Essigsäurezusatz, und vollständiger bei 0°, feinkörnig aus. Das Salz wurde noch dreimal mit Natriumacetat wie gewöhnlich umgefällt und dann nach *Feulgen* (5) weiter gereinigt.

Das tertiäre Salz wurde zweimal umkristallisiert und die aus 1000 g hefenucleinsaurem Natrium gewonnenen Kristalle in 2800 ccm Wasser gelöst. Dann wurde n/1 Salzsäure so lange zugesetzt, bis eine Probe der Lösung bei kolorimetrischem Vergleich (Dibromthymolsulfonphthalein als Indikator) eine Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-7}$ zeigte. Das sekundäre Salz wurde jetzt mit 6000 ccm 96proz. Alkohol ausgefällt, abzentrifugiert, nochmals aus Wasserlösung mit Alkohol gefällt und endlich mit absolutem Alkohol und absolutem Äther getrocknet. Nachdem der letztere im Vakuum abgedampft war, wurde das Präparat während 2 Wochen luftgetrocknet. Es enthielt trotzdem, wie die Analysen zeigen, etwa 10 Proz. Wasser.

*Analysen.*

0,0953 g Substanz verbrauchten (*Kjeldahl*) 10,46 ccm n/10 HCl = 15,38 Proz. N.
0,0872 g Substanz verbrauchten (*Kjeldahl*) 9,57 ccm n/10 HCl = 15,38 Proz. N.
0,0800 g Substanz verbrauchten (*Kjeldahl*) 8,72 ccm n/10 HCl = 15,27 Proz. N.
0,0840 g Substanz verbrauchten (*Kjeldahl*) 9,19 ccm n/10 HCl = 15,33 Proz. N.
Mittelwert 15,34 Proz. N.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 0,3190 g | Substanz gaben (*Woy*) | 0,0751 g | $Mg_2P_2O_7$ | = 6,56 Proz. P |
| 0,3191 g | „ „ „ | 0,0778 g | „ | = 6,80 „ „ |
| 0,3193 g | „ „ „ | 0,0775 g | „ | = 6,77 „ „ |
| 0,3234 g | „ „ „ | 0,0800 g | „ | = 6,90 „ „ |
| | | | Mittelwert | 6,76 Proz. P |

Bei Verbrennung mit $H_2SO_4$ und Na-Bestimmung wurden folgende Werte erhalten:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 0,9200 g | Substanz gaben | 0,2726 g | $Na_2SO_4$ | = 9,59 Proz. Na |
| 0,9900 g | „ „ | 0,2918 g | „ | = 9,54 „ „ |
| 0,9563 g | „ „ | 0,2827 g | „ | = 9,57 „ „ |
| | | | Mittelwert | 9,57 Proz. Na |

0,9121 g Substanz wurden verbrannt und auf Chlor analysiert, 0,44 ccm n/10 $AgNO_3$ wurden verbraucht, was 0,11 Proz. Na, an NaCl gebunden, entspricht. Also waren in diesem Präparat nur 9,46 Proz. Na an Guanylsäure gebunden. Nach den Analysen lassen sich folgende Werte für N : P und N : Na berechnen.

N : P = 2,27 (theoretisch 5 N : P = 2,26),
N : Na = 1,60 ( „ 5 N : 2 Na = 1,52).

Das Verhältnis N : P gibt an, daß das Präparat von anderen N- oder P-haltigen Substanzen [namentlich Nucleinsäuren][1]) vollständig frei war.

Der Na-Gehalt war ein wenig kleiner als für reines, sekundäres Salz, was eine direkte Folge der Darstellungsmethode war, indem die Wasserstoffionenkonzentration des reinen, sekundären Salzes, wie ich später fand, etwa $10^{-7,9}$ und nicht $10^{-7,0}$ sein soll.

Der Kochsalzgehalt konnte durch Alkoholfällung nicht weiter vermindert werden, weshalb dieses Präparat — im folgenden Präparat A genannt — nur für einige der Versuche verwendet werden konnte. Für die meisten Zwecke stellte ich zuerst die freie Säure dar. Die unten ausgeführte Präparation der freien Säure war ein wenig umständlich, erwies sich aber als die einzige zuverlässige, wenn man ein absolut Na-freies Präparat bekommen will:

*Darstellung der freien Guanylsäure.*

10 g des Präparats A, in 200 ccm Wasser gelöst, wurden mit 15 g $CuCl_2$, in 50 ccm Wasser gelöst, tropfenweise unter stetigem Umrühren versetzt, die Flüssigkeit 30 Minuten intensiv geschüttelt und, da die Fällung des Kupfersalzes schwer zu filtrieren war, wiederholt zentrifugiert und die Fällung jedesmal mit 4 Volumen Wasser ausgerührt. Nach sechs bis sieben Waschungen war die Chlorreaktion des Waschwassers ganz verschwunden; nach neun bis zehn Waschungen gingen erhebliche Mengen des Kupfersalzes in kolloide Lösung, weshalb ich dann mit dem Waschen aufhörte. Die Fällung, mit 200 ccm Wasser ausgerührt, wurde nun mit reinem Schwefelwasserstoff (aus $Na_2S$ und $H_2SO_4$ hergestellt) während 4 Stunden behandelt, dann geschüttelt und endlich der Schwefelwasserstoff durch Einblasen eines kräftigen Wasserstoffstromes bis zum vollständigen Verschwinden des Geruches entfernt. Die graue Fällung bestand aus Kupfersulfid und Guanylsäure. Von der letzteren befand sich auch ein wenig in der Lösung; alles konnte doch nicht durch Wasserzusatz gelöst werden, da Kupfersulfid zugleich kolloidal in Lösung ging. Deshalb wurde zu der Mischung Barytwasser bis zu schwach alkalischer Reaktion zugesetzt und das Bariumsalz der Guanylsäure, vollkommen frei von Kupfersulfid, durch Waschung mit 100gradigem Wasser im Warmtrichter in Lösung gebracht. 2 Liter Wasser wurden verbraucht, wonach nichts mehr in Lösung ging. Die Lösung wurde dann mit 3 Liter 96proz. Alkohol bei 0° gefällt, wobei das Salz fast quantitativ ausfiel. Nach Abzentrifugieren, Waschen mit Alkohol und Äther und Trocknen in $CO_2$-freier Luft wurden 11 g des Bariumsalzes der Guanylsäure (Präparat B) gewonnen.

Für jede Versuchsreihe wurde aus diesem Salze, das sich gut aufbewahren läßt, die freie Säure in folgender Weise gewonnen:

1 g des „Präparat B" wurde mit 60 ccm $CO_2$-freien Wassers rasch aufgekocht, die Lösung wieder auf 15° gekühlt (das Salz fiel äußerst feinkörnig aus) und mit n/10 Schwefelsäure versetzt, bis eine filtrierte Probe weder mit $Ba(OH)_2$ noch mit $H_2SO_4$ die geringste Trübung zeigte. 36,05 ccm

[1]) Adenylsäure kommt nicht in Frage, weil ihr Natriumsalz sehr leicht löslich ist.

— ein ziemlich konstanter Mittelwert von mehreren Darstellungen — wurden verbraucht, wobei die Genauigkeit ± 0,05 ccm war. Nach Filtrieren erhält man eine etwa 0,015 molare oder 0,6proz. Lösung, die bei Zimmertemperatur beinahe gesättigt war und, wie Proben im Interferometer zeigten, sich mehrere Tage bei 18° ohne Zersetzung aufbewahren läßt. Die Konzentration der Lösung wurde aus drei Stickstoffanalysen erhalten. Dann konnten die Na-Salze durch Zusatz einer berechneten Menge NaOH dargestellt werden.

### 2. Dissoziationsgleichgewicht der Guanylsäure.

Nach *Levene* und *Jacobs* (7) besteht das Guanylsäuremolekül aus 1 Mol. d-Ribose, woran teils 1 Mol. Phosphorsäure, teils 1 Mol. Guanin gebunden sind, nach dem Schema:

$$\underset{\text{Phosphorsäure}}{H_3PO_4} + \underset{\text{d-Ribose}}{C_5H_{10}O_5} + \underset{\text{Guanin}}{C_5H_5N_5O} = \underset{\text{Guanylsäure}}{\begin{matrix}HO\\HO\end{matrix}\!\!>\!PO{-}C_5H_8O_4{-}C_5H_4N_5O} + 2H_2O.$$

Die Säure bildet nun bekanntlich mit zwei Äquivalenten einer Base neutrale Salze, was der Dissoziation der zwei Wasserstoffatome aus dem Phosphorsäurerest entspricht. Da die Säure in Wasserlösung stark sauer reagiert, muß wenigstens das eine Wasserstoffatom stark abdissoziiert sein. Die Säure bildet aber, wie *Feulgen* (5) gezeigt hat, Salze auch mit einem dritten Äquivalenten der Base. Da diese stark alkalisch reagieren, müssen sie von einem sehr schwach abdissoziierten Wasserstoffatom, vielleicht aus dem Guaninrest, stammen.

Schon aus einer solchen Erwägung ist es leicht verständlich, daß diese drei Wasserstoffatome der Säure sehr verschieden stark als Ionen abgestoßen werden. Einige Vorversuche gaben für die Dissoziationskonstanten Zahlen, die sich der Größenordnung nach wie $10^6 : 10^3 : 1$ verhielten. Die theoretische Ableitung wird dadurch wesentlich vereinfacht, indem in gewissen Wasserstoffionenkonzentrationsgebieten die Dissoziation des einen oder des anderen Wasserstoffatoms unberücksichtigt gelassen werden können.

Der Übersichtlichkeit wegen habe ich die folgende Herleitung anfänglich zu einer generellen Formel geführt, wonach für jeden besonderen Fall zulässige Approximationen ausgeführt sind. Diese, wie alle Berechnungen von Dissoziationsgleichgewichten in vorliegender Arbeit sind nach den klassischen Theorien von *Arrhenius* und *Guldberg-Waage* ausgeführt.

Die molare Konzentration der Säure sei $c_1$ (Grammoleküle pro Liter).

Die Äquivalentkonzentration der Base sei $c_2$ (Grammäquivalente pro Liter).

Die Wasserstoffionenkonzentration sei $a$ (Grammionen pro Liter).

Die Dissoziationskonstante seien bzw. $k_1$, $k_2$ und $k_3$, die Dissoziationsgrade der drei Salze $\beta_1$, $\beta_2$ bzw. $\beta_3$. Die Säure werde der Einfachheit wegen $H_3G$ geschrieben, welche Bezeichnungsweise im folgenden überall angewandt wird.

In einer Lösung von $H_3G + NaOH$ befinden sich dann folgende Ionen- und Molekülarten: $H_3G$, $NaH_2G$, $Na_2HG$, $Na_3G$, $H^\cdot$, $Na^\cdot$, $OH'$, $H_2G'$, $HG''$, $G'''$.

Wenn Konzentrationen durch Klammern angegeben werden, gilt:

$$\left.\begin{aligned} a.[OH'] &= k_w & (1)\\ a.[H_2G'] &= k_1[H_3G] & (2)\\ a.[HG''] &= k_2[H_2G'] & (3)\\ a.[G'''] &= k_3[HG''] & (4)\end{aligned}\right\} \text{Nach dem Gesetz der Massenwirkung.}$$

$$\left.\begin{aligned} &[H_3G] + [NaH_2G] + [Na_2HG] + [Na_3G] + [H_2G'] + [HG''] + [G'''] = c_1 & (5)\\ &[Na^\cdot] + [NaH_2G] + 2[Na_2HG] + 3[Na_3G] = c_2 & (6)\end{aligned}\right\} \text{Konzentrationsbedingungen.}$$

$$[H^\cdot] + [Na^\cdot] = [OH'] + [H_2G'] + 2[HG''] + 3[G'''] \quad \text{Elektroneutralitätsbedingung.} \quad (7)$$

$$[H_2G'] = \beta_1([H_2G'] + [NaH_2G]) \quad (8)$$

$$[HG''] = \beta_2([HG''] + [Na_2HG]) \quad (9)$$

$$[G'''] = \beta_3([G'''] + [Na_3G]) \quad (10)$$

Die Dissoziationsgrade $\beta_1$, $\beta_2$, $\beta_3$ sind hier definiert als das Verhältnis der Konzentration eines gewissen Anions zu der gesamten Menge dieses selben Ions, die entstehen würde, wenn das entsprechende Salz vollständig dissoziiert wäre.

Sind $a$, $c_1$, $c_2$, $\beta_1$, $\beta_2$ und $\beta_3$ bekannt, erhält man also 12 Unbekannte und 10 Äquationen. Nur wenn zwei der Dissoziationskonstanten vernachlässigt werden können oder schon gemessen sind, kann also die dritte bestimmt werden.

Das Äquationssystem (1 bis 10) gibt beim Solvieren:

$$\frac{\dfrac{a^2k_1}{\beta_1} + \dfrac{2a.k_1k_2}{\beta_2} + \dfrac{3k_1k_2k_3}{\beta_3}}{a^3 + \dfrac{a^2k_1}{\beta_1} + \dfrac{ak_1k_2}{\beta_2} + \dfrac{k_1k_2k_3}{\beta_3}} = \frac{a + c_2 - \dfrac{k_w}{a}}{c_1} = Q. \quad (11)$$

**Besondere Fälle:**

a) $c_2 < c_1 \left(c_2 \approx \frac{c_1}{2}\right)$.

Da die Lösung stark sauer ist, kann nur das erste Wasserstoffatom sich als Ion bemerkbar machen. Dann wird (11) auf

$$\frac{k_1}{\beta_1 a + k_1} = \frac{a + c_2}{c_1} \quad (12)$$

vereinfacht.

Dieser Fall eignet sich besonders gut für die Bestimmung der ersten Dissoziationskonstante.

Die Lösung der freien Säure kann zu diesem Zwecke nicht gebraucht werden, da auch die kleinsten Überschüsse an $H_2SO_4$ oder $Ba(OH)_2$ sich dann sehr geltend machen. Da die Dissoziationsgrade der Natriumsalze, $\beta_1$, $\beta_2$ und $\beta_3$, in den Lösungen nicht bestimmt werden können, habe ich sie im folgenden überall gleich 1 gesetzt, was nach Messungen an dem sekundären Salze (s. unten) in diesen verdünnten Lösungen keinen erheblichen Fehler verursachen kann.

b) $c_2 = c_1 = c'$ (das Salz $NaH_2G$).

Die Lösung ist ziemlich schwach sauer, weshalb auch das zweite Wasserstoffatom merklich dissoziiert. Für die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration des primären Salzes erhält man dann aus (11)

$$a^3 + a^2(k_1 + c') + a k_1 k_2 - c' k_1 k_2 = 0. \tag{13}$$

In nicht allzu verdünnten Lösungen kann man diese Gleichung weiter auf

$$a^2 = k_1 k_2 \frac{c' + k_1}{c'} \tag{14}$$

vereinfachen.

c) $2c_1 > c_2 > c_1$.

Wenn $a$ nicht zu fern von $10^{-6}$ liegt, was $c_2 \approx {}^3/_2 c_1$ entspricht, kann $a$ im Vergleich mit $k_1$ unberücksichtigt gelassen werden. Die Lösung ist aber noch so sauer, daß das dritte Wasserstoffatom nicht merkbar dissoziiert. Dann erhält man aus (11)

$$\frac{a + 2k_2}{a + k_2} = Q \quad \text{oder} \quad k_2 = \frac{a\left(a + c_2 + \frac{k_w}{a} - c_1\right)}{2c_1 - \left(a + c_2 + \frac{k_w}{a}\right)}. \tag{15}$$

Dieser Fall und diese Formel ist für die $k_2$-Bestimmung zu verwenden, wobei im allgemeinen $a$ und $\frac{k_w}{a}$ als Addende gegen $c_1$ und $c_2$ vernachlässigt werden können.

d) Will man aus den Dissoziationskonstanten die Wasserstoffionenkonzentration des sekundären Salzes, $Na_2HG$, bestimmen, kann man (11) nach absteigenden Potenzen von $a$ ordnen und Termen, die auf das Resultat innerhalb der Versuchsfehler nicht einwirken, ausschließen. Dann ergibt sich ($c_2 = 2c_1 = 2c''$)

$$a^2 = k_2 \frac{c'' k_3 + k_w}{c''}. \tag{16}$$

e) $3c_1 > c_2 > 2c_1$ $(c_2 \approx {}^5/_2 c_1)$.

Hier braucht $a$ als Addend gegen $\frac{k_w}{a}$ nicht berücksichtigt zu werden. Nach übrigen erlaubten Approximationen gibt (11):

$$\frac{2a + 3k_3}{a + k_3} = \frac{c_2 - \frac{k_w}{a}}{c_1}. \qquad (17)$$

Diesen Fall habe ich für die $k_3$-Bestimmung gebraucht.

f) Für das tertiäre Salz gilt endlich ($c_2 = 3c_1 = 3c'''$)

$$a^2 = \frac{k_3 k_w}{c'''}. \qquad (18)$$

Die Konstanten $k_1$, $k_2$ und $k_3$ wurden aus den Formeln (12), (15), (17) nach elektrometrischer Messung der Wasserstoffionenkonzentration (gesättigte Kalomelelektrode) an verschiedenen, den angeführten Fällen entsprechenden Lösungen berechnet. Bei den Bestimmungen von $k_2$ und $k_3$ war es notwendig, bei Kohlensäureabschluß zu arbeiten. Die Überführung der Lösungen vom Meßkolben zur Wasserstoffelektrode geschah deshalb unter Anwendung von Hebern und Natronkalkröhrchen. Auf Grund der Schwerlöslichkeit der Guanylsäure konnten nur verdünnte Lösungen untersucht werden, was für die Genauigkeit der Resultate unvorteilhaft war. Die Ablesungsgenauigkeit war deshalb im allgemeinen nicht größer als ± 0,5 Millivolt. Um einen guten Mittelwert zu bekommen, wurden deshalb ziemlich viele Messungen ausgeführt. Die Versuchstemperatur war 20°.

Die in den Tabellen I bis III angeführten Resultate sind aus drei zu verschiedenen Zeiten dargestellten Guanylsäurelösungen erhalten.

*Tabelle I.*

Bestimmungen der ersten Dissoziationskonstante der Guanylsäure ($k_1$) bei 20°.

| $c_1 \cdot 10^3$ | $c_2 \cdot 10^3$ | $c_2 : c_1$ | $a \cdot 10^3$ | $k_1 \cdot 10^3$ | Abweichung vom Mittelwert $\Delta k_1 \cdot 10^3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 13,95 | 6,07 | 0,44 | 2,82 | 4,95 | + 0,50 |
| 12,40 | 5,77 | 0,47 | 2,46 | 4,86 | + 0,41 |
| 10,85 | 4,25 | 0,39 | 2,63 | 4,56 | + 0,11 |
| 9,30 | 4,25 | 0,46 | 2,00 | 4,10 | — 0,35 |
| 7,75 | 3,14 | 0,41 | 2,00 | 3,94 | — 0,51 |
| 4,75 | 0,70 | 0,15 | 2,38 | 4,39 | — 0,16 |
| 7,12 | 2,00 | 0,28 | 2,49 | 4,25 | — 0,20 |
| 7,12 | 1,87 | 0,26 | 2,65 | 4,61 | + 0,16 |
| 7,12 | 3,50 | 0,49 | 1,68 | 4,49 | + 0,04 |
| 2,85 | 1,50 | 0,53 | 0,85 | 4,00 | — 0,45 |
| 3,20 | 1,49 | 0,47 | 1,11 | 4,81 | + 0,36 |

Mittelwert $k_1 = (4,45 \pm 0,10) \cdot 10^{-3}$

*Tabelle II.* Bestimmungen der zweiten Dissoziationskonstante der Guanylsäure ($k_2$) bei 20°.

| $c_1 . 10^3$ | $c_2 . 10^3$ | $c_2 : c_1$ | $a . 10^6$ | $k_2 . 10^7$ | $\Delta k_2 . 10^7$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 7,12 | 7,50 | 1,05 | 10,4 | 6,0 | — 2,2 |
| 7,12 | 8,00 | 1,12 | 6,72 | 9,6 | + 1,4 |
| 7,12 | 8,50 | 1,19 | 4,08 | 9,8 | + 1,6 |
| 4,75 | 5,10 | 1,07 | 8,40 | 6,9 | — 1,3 |
| 4,75 | 5,30 | 1,12 | 5,78 | 7,7 | — 0,5 |
| 12,40 | 16,29 | 1,31 | 1,86 | 8,5 | + 0,3 |
| 10,85 | 14,98 | 1,38 | 1,41 | 8,7 | + 0,5 |
| 9,30 | 11,64 | 1,25 | 2,51 | 8,4 | + 0,2 |
| 7,75 | 11,23 | 1,45 | 1,05 | 8,6 | + 0,4 |
| 6,20 | 7,39 | 1,19 | 3,16 | 7,5 | — 0,7 |

Mittelwert $k_2 = (8,2 \pm 0,3) . 10^{-7}$

*Tabelle III.* Bestimmungen der dritten Dissoziationskonstante der Guanylsäure ($k_3$) bei 20°.

| $c_1 . 10^3$ | $c_2 . 10^3$ | $c_2 : c_1$ | $a . 10^{10}$ | $k_3 . 10^{10}$ | $\Delta k_3 . 10^{10}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 10,85 | 23,78 | 2,19 | 6,61 | 1,6 | — 0,4 |
| 9,30 | 21,45 | 2,31 | 4,27 | 1,9 | — 0,1 |
| 7,75 | 16,19 | 2,09 | 15,1 | 1,5 | — 0,5 |
| 6,20 | 14,88 | 2,40 | 3,39 | 2,2 | + 0,2 |
| 4,65 | 9,31 | 2,00 | 135 | 2,2*) | + 0,2 |
| 4,75 | 11,20 | 2,35 | 3,80 | 2,1 | + 0,1 |
| 4,75 | 12,50 | 2,63 | 1,43 | 2,6 | + 0,6 |
| 7,12 | 16,30 | 2,29 | 5,06 | 2,1 | + 0,1 |
| 7,12 | 17,30 | 2,43 | 2,67 | 2,0 | ± 0,0 |

Mittelwert $k_3 = (2,0 \pm 0,1) . 10^{-10}$

*) Nach Formel 16.

Der mittlere Fehler des Mittelwertes wurde nach der Formel $\sqrt{\frac{\sum (\Delta k)^2}{n(n-1)}}$ berechnet.

Die Bestimmung von $k_1$ ist natürlich viel genauer als die von $k_2$ und $k_3$.

Trotz ihrer Molekulargröße ist die Guanylsäure also eine der stärksten organischen Säuren, die in der ersten Stufe etwa 250 mal stärker als die Essigsäure und dreimal stärker als Malonsäure dissoziiert. Das zweite Wasserstoffatom wird etwa neunmal stärker als das entsprechende bei Phosphorsäure abgestoßen. Die dritte Dissoziationsstufe endlich entspricht einer sehr schwachen Säure, was auch zu erwarten war, da diese Dissoziation nicht vom Phosphorsäurerest herkommt.

Wegen ihrer starken Dissoziation hat die Guanylsäure große Möglichkeiten, auch mit ziemlich schwachen Basen beständige Salze zu bilden, und hat überhaupt ein bedeutendes chemisches Reaktionsvermögen, was für das Vorkommen dieser und anderer Nucleinsäuren im Zellkern sicher von größter Bedeutung ist. Die Säure ist nur sehr wenig stärker als die Thymonucleinsäure.

Tabelle IV zeigt einen Vergleich zwischen den Dissoziationskonstanten von Guanylsäure und Thymonucleinsäure. Bei der letzteren Säure liegen $k_1$ bis $k_4$ viel näher aneinander, was auf ihrer Eigenschaft als Polyphosphorsäure beruht.

*Tabelle IV.*

Dissoziationskonstante der Guanylsäure und Thymonucleinsäure (20°).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Guanylsäure . . . . | $k_1 = 4{,}45 \cdot 10^{-3}$ | $k_2 = 8{,}2 \cdot 10^{-7}$ | $k_3 = 2{,}0 \cdot 10^{-10}$ | — |
| Thymonucleinsäure . | $k_1 = 4{,}3 \cdot 10^{-3}$ | $k_2 = 2{,}2 \cdot 10^{-4}$ | $k_3 = 5 \cdot 10^{-5}$ | $k_4 = 7 \cdot 10^{-6}$ |

Um die Dissoziation der drei Wasserstoffatome bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen überblicken zu können, wurden die

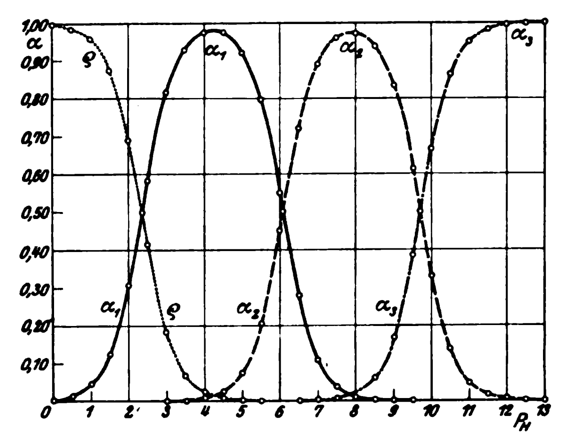



Abb. 1 bis 4. Dissoziationszustand der Guanylsäure.

Dissoziationsgrade $\alpha_1$, $\alpha_2$, $\alpha_3$ nach *Michaelis* (8) als das Verhältnis zwischen den entsprechenden Ionen $H_2G'$, $HG''$ bzw. $G'''$ und der Totalmenge der Säure berechnet. Dann ist

$$\alpha_1 = \frac{1}{\frac{a}{k_1} + 1 + \frac{k_2}{a} + \frac{k_2\,k_3}{a^2}}; \qquad \alpha_2 = \frac{1}{\frac{a^2}{k_1\,k_2} + \frac{a}{k_2} + 1 + \frac{k_3}{a}};$$

$$\alpha_3 = \frac{1}{\frac{a^3}{k_1\,k_2\,k_3} + \frac{a^2}{k_2\,k_3} + \frac{a}{k_3} + 1};$$

$$\varrho = \frac{1}{1 + \frac{k_1}{a} + \frac{k_1\,k_2}{a^2} + \frac{k_1\,k_2\,k_3}{a_3}}.$$

($\varrho$ = Dissoziationsrest.)

Für $k_1 = 4{,}45 \cdot 10^{-3}$, $k_2 = 8{,}2 \cdot 10^{-7}$ und $k_3 = 2{,}0 \cdot 10^{-10}$ erhält man die Abb. 1 bis 4, die den Zusammenhang zwischen $p_H$ ($= -\log a$) und $\alpha_1$, $\alpha_2$, $\alpha_3$, $\varrho$ zeigen.

**3. Dissoziationsgleichgewicht des sekundären Natriumsalzes der Guanylsäure (di-Natriumguanylat).**

Die Dissoziation des di-Natriumguanylats wurde durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Salzes in Wasserlösung berechnet.

Die Versuchsanordnung war die gewöhnliche mit einer *Wheatstone*schen Brücke und Wechselstromtelephon. Es wurden acht Elektroden mit für die verschiedenen Verdünnungen passenden Widerstandskapazitäten verwendet. Die letztere Größe wurde mittels Salzlösungen vor jeder Versuchsreihe bestimmt.

Die Resultate sind in Tabelle V zusammengestellt und in Abb. 5 graphisch abgebildet. Bedeutung von $c_1$ und $c_2$ wie oben; $\frac{1}{c_2}$ war also die Anzahl Liter Wasser, worin 1 g-Äquivalent Natrium gelöst war.

*Tabelle V.*

Dissoziationsgleichgewicht des di-Natriumguanylats bei 20°.

| Äquivalentkonzentration $c_2 \cdot 10^4$ | $v = 1/c_2$ | Spezifisches Leitvermögen $\varkappa \cdot 10^4$ | Äquivalentes Leitvermögen $\Lambda_v$ | Dissoziationsgrad $\alpha_v$ |
|---|---|---|---|---|
| 258 | 38,8 | 16,87 | 65,5 | 0,70 |
| 156 | 64 | 10,84 | 69,4 | 0,74 |
| 100 | 100 | 7,21 | 72,1 | 0,77 |
| 78 | 128 | 5,77 | 73,9 | 0,78 |
| 50 | 200 | 3,81 | 76,2 | 0,81 |
| 39 | 256 | 3,03 | 77,6 | 0,83 |
| 25 | 400 | 1,99 | 79,6 | 0,85 |
| 19,5 | 512 | 1,58 | 80,9 | 0,86 |
| 12,5 | 800 | 1,04 | 83,2 | 0,89 |
| 9,75 | 1024 | 0,829 | 85,0 | 0,91 |
| 6,25 | 1600 | 0,554 | 88,6 | 0,94 |
| 4,88 | 2048 | 0,437 | 89,5 | 0,95 |
| 3,12 | 3200 | 0,284 | 90,9 | 0,97 |
| 2,44 | 4096 | 0,224 | 91,8 | 0,98 |
| 1,56 | 6400 | 0,144(5) | 92,5 | 0,98 |
| 0,00 | ∞ | 0,000 | 94,0 | 1,00 |

Versuchstemperatur 20°. Die Werte sind für das Eigenleitvermögen des angewandten kohlensäurefreien Wassers korrigiert (Mittelwert gefunden $\varkappa = 1{,}41 \cdot 10^{-6}$); so auch für die kleine Menge $BaSO_4$ der Stammlösung (2,4 mg/Liter).

Die Abb. 5 zeigt den Zusammenhang zwischen $c_2$ und $\Lambda_v$.

Das Äquivalentleitvermögen bei unendlicher Verdünnung kann mit ziemlich großer Genauigkeit auf $\Lambda_\infty = 94{,}0$ geschätzt werden, indem die vier letzten Werte in einer Geraden liegen, $\alpha_v = \frac{\Lambda_v}{\Lambda_\infty}$ wurde dann aus der Kurve berechnet.

Die Dissoziation des di-Natriumguanylats ist demnach völlig mit derjenigen eines anorganischen divalenten Salzes übereinstimmend, und zwar ist nach *Ostwald-Waldens* Regel hier $\Lambda_{1024} - \Lambda_{32} = 85{,}4 - 64{,}0 = 21{,}4 = 2 \,.\, 10{,}7$ in bestem Einklang mit der Theorie.

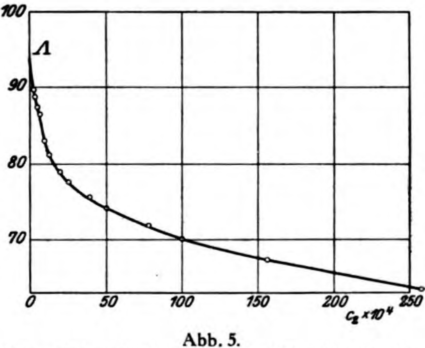



Abb. 5.
Dissoziationsgleichgewicht für di-Natriumguanylat.

Aus $\Lambda_\infty = 94{,}0$ kann man die Wanderungsgeschwindigkeit $l_a^{20^0}$ des zweiwertigen Guanylations berechnen. Wenn die Wanderungsgeschwindigkeit des Natriumions (bei 20⁰) gleich 45,7 gesetzt wird, so erhält man $l_a^{20^0} = 48{,}3$. Für das einwertige Guanylation dürfte deshalb eine etwa halb so große Wanderungsgeschwindigkeit bei $20^0$ oder 24,2 angenommen werden. Aus der Atomzahl der Guanylsäure, 38, kann man für das einwertige Guanylation eine Wanderungsgeschwindigkeit von etwa $24{,}5 \pm 2{,}5$ berechnen [*Ostwald* (9)].

#### 4. Löslichkeitsverhältnisse bei der Guanylsäure.

Die freie Säure löste sich in Wasser ganz dünnflüssig und klar auf. Die Lösung war im Ultramikroskop mit Kardioidkondensator völlig optisch leer. Bei NaOH-Zusatz blieb die Lösung dünnflüssig, und es bildeten sich vereinzelte, im Gesichtsfelde bewegliche Lichtpunkte. Ihre geringe Anzahl zeigte aber, daß sie nur von der winzigen Menge einer Verunreinigung herkommen konnten.

Das primäre Na-Salz, aus dem sekundären mit Salzsäure dargestellt, gelatiniert bekanntlich; ich fand aber, daß auch eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung des sekundären Salzes, bei Abkühlung auf $0^0$ und sehr vorsichtiger Wärmung zur Auflösung des abgeschiedenen Salzes einen dichten durchsichtigen Kleister bilden konnte, der dann aber mit der Zeit wieder dünnflüssig wurde.

#### 5. Osmotischer Druck der freien Guanylsäure und des sekundären Natriumsalzes.

Alle Versuche, den osmotischen Druck der freien Säure mit Kollodiummembranen direkt zu messen, mißlangen, da die Säure



teils zu schnell durch die Membranen diffundierte, teils von denselben adsorbiert wurde.

Dagegen konnte ich die Gefrierpunktserniedrigung einer Wasserlösung der Säure bestimmen (Tabelle VI).

*Tabelle VI.*

Gefrierpunktserniedrigung für Guanylsäure.

| Molare Konzentration $C \cdot 10^3$ | Wasserstoffionenkonzentration $[H^\cdot] \cdot 10^3$ | Gefrierpunktserniedrigung, $\Delta$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Gefunden | Mittelwert | Berechnet |
| 15,07 | 6,31 | 0,041 . 0,040 . 0,040 . 0,042 | 0,041 ± 0,001 | 0,040 |
| 7,53 | 3,85 | 0,020 . 0,020 . 0,022 . 0,019 | 0,020 ± 0,001 | 0,021 |

Die berechnete Gefrierpunktserniedrigung $\Delta$ ist nach der Formel $\Delta = (C + [H^\cdot]) \cdot 1{,}85$ erhalten worden, wobei $[H^\cdot]$ direkt elektrometrisch bei $20^0$ gemessen wurde. Es wäre richtiger $[H^\cdot]$ bei $0^0$ zu messen. Dies kann doch keine über die Versuchsfehler reichende Änderung der Resultate bewirken. Die gefundene Gefrierpunktserniedrigung ist das Mittel aus vier um weniger als $\pm$ 0,003$^0$ voneinander abweichenden Bestimmungen. Die Übereinstimmung mit *Arrhenius-van 't Hoffs* Theorien ist gut. Stärkere Lösungen konnten für die Messung leider nicht dargestellt werden.

Das sekundäre Natriumguanylat zeigte in Kollodiummembranen einen gut meßbaren osmotischen Druck. Doch konnte *Sörensens* Kompensationsmethode nicht zu der Messung verwendet werden, indem das Salz nur von scharf getrockneten Membranen zurückgehalten wurde. Diese Membranen waren dann aber auch für Wasser zu wenig permeabel, um die Verwendung der genannten Methode zu gestatten. Deshalb wurde die hydrostatische Steighöhe in einer Kapillare (Abb. 6) direkt abgelesen. Die Versuchsanordnung bedarf einer kurzen Beschreibung.

*Herstellung der Hülsen.*

Kommt es nur darauf an, den osmotischen Druck reiner Guanylatlösungen zu messen, kann jede genügend hart getrocknete Kollodiummembran verwendet werden. Da ich aber auch Versuche bei Gegenwart von Neutralsalzen ausführen wollte, mußte eine für Guanylat impermeable, für anorganische, einfache Salze dagegen gut permeable Hülse hergestellt werden.

Die Hülsen wurden nach *Sörensen* durch mehrmaliges Aufgießen von Kollodium auf schräg gestellte, rotierende Glasröhrchen und nachheriges Trocknen an der Luft verfertigt. Um die Permeabilität für die beiden Substanzen modifizieren zu können, wurden alle mitwirkenden Faktoren genau bestimmt und dann der eine oder der andere systematisch verändert. Solche Faktoren waren z. B. Luft-

temperatur, Rotationsgeschwindigkeit und Neigungswinkel des Rohres, Aufguß- und Trockenzeit usw.

Um die Permeabilität zu prüfen, machte ich mit jeder Hülse zwei Versuche.

a) Mit einer 0,15 proz. Lösung von $Na_2HG$ gefüllt, wurde die Hülse 20 Stunden in Wasser von 20° eingetaucht. Dieses wurde dann eingeengt und auf Stickstoff nach *Kjeldahl* untersucht. Die ausdiffundierte Stickstoffmenge, in Prozenten der ganzen Menge ausgerechnet, wird im folgenden „Guanylsäurepermeabilität" genannt. Sie dürfte höchstens 8 Proz. betragen.

b) Mit 10 ccm 0,001 n NaCl gefüllt und luftdicht geschlossen, wurde die Hülse 20 Stunden in 100 ccm 0,010 n NaCl von 20° eingetaucht, die Innenflüssigkeit dann nach *Mohr* auf Chlor analysiert. Ideal wäre es dann, wenn die Salzkonzentration innen und außen dieselbe wäre (etwa 0,0092 n). Ich mußte mich aber mit einer Innenkonzentration von 0,003 bis 0,004 n begnügen. Das Verhältnis der Konzentrationen innen nach und vor Dialyse reiner Kochsalzlösungen wird im folgenden „Salzpermeabilität" genannt.

Die am besten gelungene Hülse wurde auf folgende Weise bereitet:

Kollodium wurde fünfmal alle 9 Minuten auf ein Röhrchen von den Dimensionen 12 × 1 cm gegossen. Jeder Aufguß dauerte 5 Sekunden bei einem Neigungswinkel von 30° und einer Rotationsgeschwindigkeit von 100 Drehungen in 70 Sekunden. Dann wurde die Hülse noch während 2½ Stunden bei 18° rotierend getrocknet. Die Guanylsäurepermeabilität dieser Hülse war, sowohl im Anfang wie nach 3 Monaten 2,0, die Salzpermeabilität 3,8.

Alle Druckmessungen des Natriumguanylats, bei denen nichts anderes angegeben ist, wurden mit dieser Hülse (Nr. 4) ausgeführt.

Die Hülse wurde auf einen dicht schließenden Glasring mit Hilfe von Kautschuk montiert und teils mit einem langen kapillaren Steigrohre, teils mit einem seitwegs gebogenen Glasrohre in Verbindung gesetzt (Abb. 6). Das ganze wurde in ein Gefäß mit 80 ccm Außenflüssigkeit gestellt, dieses dann in ein Dewargefäß in einen auf 20° genau regulierten Thermostaten.

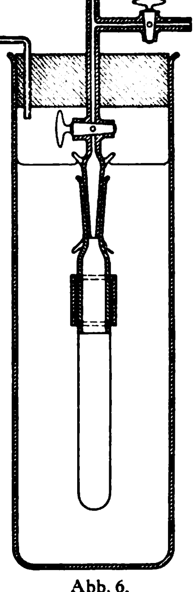


Abb. 6.
Osmometer für die „Steighöhenmethode".

Der hydrostatische Druck wurde an der Kapillare abgelesen, wenn der Meniskus nicht mehr stieg, sondern nach etwa einstündigem Stillstehen soeben zu sinken begann. Dann wurde der Apparat auseinander-

genommen und die beiden Dialysenflüssigkeiten auf Stickstoff usw. analysiert. Der abgelesene Druck muß natürlich für den Stand der Außenflüssigkeit, die Kapillarität des Rohres usw. korrigiert werden, was in den folgenden Tabellen überall durchgeführt ist.

Eine Modifikation der üblichen Methode war indessen notwendig: Durch einen Vorversuch wurde der Druck approximativ bestimmt. Bei dem eigentlichen Versuche wurde dann schon von Anfang an ein hydrostatischer Druck, der nur etwa 10 bis 20 Proz. kleiner als jener Druck war, angelegt. Dies wurde durch Einpressen von „Innenflüssigkeit“ in die Kapillare mit Hilfe des oben erwähnten Seitenrohres erreicht. Osmotisches Gleichgewicht konnte dann in wenigen Stunden erreicht werden, was notwendig war, damit nicht allzu viel Substanz ausdiffundieren sollte.

Die Berechtigung der Verwendung des „Anfangsdruckes“ geht aus den Resultaten in Tabelle VII völlig hervor, indem übereinstimmende Werte bei den verschiedensten Anfangsdrucken bekommen wurden.

*Tabelle VII.*

Osmotische Druckmessungen an di-Natriumguanylat („Präparat A“) (20°).

| Versuch Nr.: | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Hülse Nr.: | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 |
| Salzpermeabilität | 2,4 | 2,2 | 4,4 | 3,8 | 3,8 | 3,8 |
| Guanylsäurepermeabilität | 8 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Molare Konzentration . $10^3$, innen in Gleichgewicht | 1,54 | 1,42 | 1,70 | 2,14 | 1,98 | 1,64 |
| Molare Konzentration . $10^3$, außen in Gleichgewicht | 0,06 | 0,11 | 0,09 | 0,04 | 0,07 | 0,08 |
| $\alpha$ innen in Gleichgewicht | 0,84 | 0,84 | 0,83 | 0,82 | 0,82 | 0,83 |
| $\alpha$ außen in Gleichgewicht | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| Dauer der Dialyse, Stdn. | 7 | 50 | 20 | 10 | 16 | 24 |
| Anfangsdruck, cm Wasser | 79 | 40 | 73 | 100 | 68 | 32 |
| Maximumdruck, $P_{gef.}$, cm Wasser | 89,4 | 79,9 | 92,0 | 127,0 | 115,4 | 94,4 |
| Berechneter Druck, $P_{ber.}$, cm Wasser | 94,1 | 82,7 | 101,7 | 132,4 | 120,0 | 98,6 |
| Prozentische Abweichung $A = \frac{P_{ber.} - P_{gef.}}{P_{ber.}} \cdot 100$ | +5,0 | +3,4 | +9,5 | +4,1 | +3,8 | +4,3 |

Über die Bedeutung von „Berechneter Druck“ s. unten.

Der gefundene Druck ist durchwegs kleiner als dieser Druck, was vielleicht auf den Kochsalzgehalt des Präparates ankommt, da die Versuche 4 bis 6 mit Hülse 4 sogar dasselbe Fehlerprozent zeigen. Um sichere Resultate zu bekommen, wurden deshalb einige Versuche mit $Na_2HG$ aus Präparat B vorgenommen.

*Tabelle VIII.*

Osmotische Druckmessungen an di-Natriumguanylat (aus Präparat B). Mit „Hülse Nr. 4" ausgeführt (20°).

| Versuch Nr.: | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|---|---|---|---|---|
| Molare Konzentration . $10^3$, in Gleichgewicht, innen | 2,525 | 2,484 | 2,584 | 1,221 | 0,608 |
| Molare Konzentration . $10^3$, in Gleichgewicht, außen | 0,025 | 0,032 | 0,021 | 0,019 | 0,016 |
| $\alpha$ in Gleichgewicht, innen | 0,81 | 0,81 | 0,81 | 0,85 | 0,89 |
| $\alpha$ in Gleichgewicht, außen | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| Dauer der Dialyse, Stunden | 6,5 | 8 | 5 | 7 | 7,5 |
| Anfangsdruck, cm Wasser | 157 | 151 | 161 | 74 | 35 |
| Maximumdruck, $P_{\text{gef.}}$, cm Wasser | 161,2 | 160,4 | 164,0 | 80,3 | 41,0 |
| Berechneter Druck, $P_{\text{ber.}}$, cm Wasser | 161,6 | 158,4 | 165,7 | 80,0 | 40,6 |
| $\frac{P_{\text{ber.}} - P_{\text{gef.}}}{P_{\text{ber.}}} \cdot 100 = A$ | +0,2 | —1,3 | +1,0 | —0,4 | —1,0 |

Die prozentische Abweichung $A$ war im Mittel + 0,3 Proz., lag also ganz innerhalb der Versuchsfehler. Der mittlere Fehler des Mittelwertes war $\pm$ 0,4 cm auf 100 cm Druck.

Der berechnete Druck war die Druckdifferenz $P_i - P_a$ zwischen Innen- und Außenflüssigkeit, jeder Druck nach *van 't Hoff-Arrhenius* als $P = c(1 + n\alpha) \cdot 24{,}67 \cdot 10^3$ cm (bei 20°) berechnet; $c$ ist die molare Konzentration der Guanylsäure; $n$ ist in Tabelle VII nach den Na-Analysen gleich $2 \cdot \frac{1.52}{1.60}$, in Tabelle VIII gleich dem theoretischen Wert 2 gesetzt.

$\alpha$ wurde endlich aus Abb. 5 für jede Konzentration graphisch ermittelt.

Die Berechnungen setzen voraus, daß während der Dialyse keine nennenswerte Hydrolyse eintritt. Um die Hydrolyse zu messen, habe ich bei mehreren Versuchen die Wasserstoffionenkonzentrationen der Flüssigkeiten vor und nach Dialyse elektrometrisch bestimmt. Die Änderung war, wie Tabelle IX zeigt, nie größer als $\pm 10^{-0,15}$, oft viel kleiner, und eine solche Änderung bedeutet für den osmotischen Druck gar nichts, wovon man sich durch Einsetzen in Formel (11) leicht überzeugen kann.

*Tabelle IX.*

Änderung der Wasserstoffionenkonzentration von $Na_2HG$ durch Dialyse (20°).

| Molare Konzentration . $10^3$ innen | | $-\log[H^{\cdot}] = p_H$ | | Dauer der Dialyse, Stunden |
|---|---|---|---|---|
| vor Dialyse | nach Dialyse | vor Dialyse | nach Dialyse | |
| 4,50 | 4,08 | 7,75 | 7,65 | 7 |
| 2,75 | 2,41 | 7,77 | 7,57 | 12 |
| 1,50 | 1,28 | 7,61 | 7,46 | 10 |

Die Resultate der Tabelle VIII zeigen:

1. daß man mit der Steighöhenmethode mit scharf getrockneten Kollodiummembranen den osmotischen Druck von Substanzen, die ein Molekulargewicht von nur etwa 400 haben, sehr genau messen kann. Es war also in diesen Versuchen nicht notwendig, noch eine Membran, z. B. aus Ferrocyankupfer, wie *Donnan* (10) es empfiehlt, auszufällen, und dies ist aus vielen Gründen vorteilhaft. So ist z. B. die Gefahr einer Reaktion mit der Membran durch Verwendung von nur Kollodium wesentlich kleiner. Auch die Hülse ist viel weniger zerbrechlich;

2. daß di-Natriumguanylat einen osmotischen Druck besitzt, der innerhalb der Versuchsfehler der angewandten Meßmethode völlig mit der Theorie von *van 't Hoff* und *Arrhenius* übereinstimmt, wenn man den Dissoziationsgrad durch elektrische Leitfähigkeitsmessungen bestimmt und in die Berechnung einsetzt.

3. di-Natriumguanylat besteht aus einem leicht diffusiblen und einem *sehr* wesentlich langsamer diffusiblen Ion. Durch osmotische Messungen an anderen derartigen Substanzen (2, 10, 13 bis 18) hat sich herausgestellt, daß anormale Verhältnisse oft vorliegen, weshalb das Resultat schon an sich von Bedeutung ist, weil es zeigt, daß auch Verbindungen von leicht und schwer diffusiblen Ionen sich in osmotischer Hinsicht völlig normal verhalten können. Das Resultat wird später weiter diskutiert werden.

Da es indessen denkbar wäre, daß spezifische Verhältnisse durch die Anwendung einer Membran hervorgerufen wurden, die auf das Resultat einwirken konnten, habe ich den Druck auch durch Gefrierpunktsbestimmungen in Wasserlösung bestimmt (Tabelle X).

*Tabelle X.*

Gefrierpunktserniedrigung für di-Natriumguanylat (aus Präparat B).

| Molare Konzentration . $10^3$ | $\alpha$ | Gefrierpunktserniedrigung, $\Delta_{gef.}$ | | | | | $\Delta_{ber.}$ | $A = \frac{\Delta_{ber.} - \Delta_{gef.}}{\Delta_{ber.}} \cdot 100$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | Mittelwert | | |
| 25,0 | 0,61 | 0,109 | 0,108 | 0,111 | 0,107 | 0,109 | 0,103 | —5,5 |
| 13,0 | 0,70 | 0,060 | 0,058 | 0,058 | 0,061 | 0,059 | 0,058 | —1,7 |

Der Dissoziationsgrad ist auch hier, wie bei den folgenden Gefrierpunktsbestimmungen, bei 20° gemessen. Die berechnete Gefrierpunktserniedrigung ist dann $(1 + 2\,\alpha)\,.\,c\,.\,1{,}85^0$.

Die gefundenen Werte stimmen damit gut innerhalb der Versuchsfehler, wodurch der normale Druck des di-Natriumguanylats endgültig erwiesen wird.

**6. Osmotischer Druck des di-Natriumguanylats bei Gegenwart von Neutralsalzen.**

Ich habe auch eine Reihe von Druckmessungen an di-Natriumguanylat bei Gegenwart von Neutralsalzen in den Dialysenflüssigkeiten vorgenommen. Die Absicht war, die von *Donnan* (10) gefundenen Gesetze der Druckerniedrigung und Salzverteilung bei einem mittelgroßen Molekül, wie das der Guanylsäure, zu prüfen.

Von Anfang an war die Salzkonzentration (NaCl oder $MgCl_2$) dieselbe für Innen- und Außenflüssigkeit; sie wurde am Ende der Dialyse durch elektrometrische Chlorionenmessung oder durch Leitfähigkeitsmessungen bestimmt. Beide Methoden sind leider ziemlich ungenau. Besonders die erstgenannte, die sonst gut arbeitet, gibt keine sicheren Werte, wenn Natriumguanylat anwesend ist. Um die Leitfähigkeit als Maß der Salzkonzentration verwenden zu können, wurde sie für verschiedene bekannte Mischungen von Salz + $Na_2HG$ bestimmt und aus den so aufzeichenbaren Kurven der Salzgehalt der Dialysenflüssigkeiten (von bekannter Leitfähigkeit und Stickstoffkonzentration) extrapoliert. Mit dieser Methode wurde eine Genauigkeit von etwa 10 bis 20 Proz. erreicht. Der Stickstoffgehalt mußte durch Mikrobestimmungen (*Bang*) ermittelt werden, da die kleine Flüssigkeitsmenge zu anderen Analysen stark in Anspruch genommen wurde.

Da die Dialyse auch bei diesen Versuchen nur einige Stunden dauern dürfte, damit nicht zu viel Guanylat ausdiffundiere, muß man sich, wenn möglich, überzeugen, daß dann auch osmotisches Gleichgewicht zuerst für das Salz vorliegt. Die folgenden Versuche (12 bis 16) sollen zeigen, wieweit dies der Fall war:

Versuch 12: Innenflüssigkeit 0,0040 n NaCl, Außenflüssigkeit 0,0018 n NaCl; osmotischer Druck (theoretisch) 106,1 cm; „Anfangsdruck" 106,1 cm. Der Meniskus sank kontinuierlich und stand nach 3 Stunden 80 cm hoch. Die Salzkonzentrationen innen und außen waren dann (nach *Mohr* titriert) 0,0035 n bzw. 0,0019 n, was einem Drucke von 77 cm entspricht.

Versuch 13: Innenflüssigkeit 0,0040 n NaCl; Außenflüssigkeit 0,0035 n NaCl; osmotischer Druck (theoretisch) 24,2 cm; Anfangsdruck 13,0 cm. Der Meniskus stieg zuerst, war dann konstant, um endlich nach 4 Stunden auf 12,9 cm zu sinken. Die Salzkonzentrationen waren dann 0,0038 n bzw. 0,0035 n, was einem Drucke von 13,4 cm entspricht.

Diese zwei Versuche zeigen die Geschwindigkeit, womit Salz bei verschiedenen Überdrucken ausdiffundiert. Sie zeigen ferner, daß die Ausdiffusion von Salz und von Wasser völlig parallel gehen.

Versuch 14 wurde mit thymonucleinsaurem Natrium ausgeführt, die Salz- und Na-Konzentrationen waren aber völlig gleich mit denjenigen im Versuche 17 mit di-Natriumguanylat. Das Thymonucleinsäureion konnte gar nicht durch die Membran (Hülse 4) diffundieren. Während 4 Stunden stieg der Druck, blieb aber dann in 20 Stunden vollkommen konstant.

Salzgleichgewicht hat sich also schon nach 4 Stunden eingestellt. Daß es auch bei Versuchen mit Guanylsäure wahrscheinlich so war, zeigen die Versuche 15 und 16 (Tabelle XI), mit und ohne Salz, die dem Versuche 5 bzw. 20 völlig gleich waren, die aber nach erreichtem Druckmaximum fortgesetzt wurden.

*Tabelle XI.*

Druckmessungen an $Na_2HG$ nach erreichtem Maximumpunkt.

| Versuch Nr. 15<br>Innenflüssigkeit $2{,}9 \cdot 10^{-3}$ n $Na_2HG$<br>Außenflüssigkeit destilliertes Wasser | | | | Versuch Nr. 16<br>Innenflüssigkeit $2{,}9 \cdot 10^{-3}$ n $Na_2HG + 8 \cdot 10^{-3}$ n NaCl. Außenflüssigkeit $8 \cdot 10^{-3}$ n NaCl | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Steighöhe cm | Zeit Stunden | Steighöhe cm | Zeit Stunden | Steighöhe cm | Zeit Stunden | Steighöhe cm | Zeit Stunden |
| 102,0 | 0 | 115,30 | 10 | 30,0 | 0 | 51,8 | 11 |
| 110,3 | 2 | 115,0 | 12 | 38,6 | 2 | 51,7 | 12 |
| 113,3 | 4 | 114,6 | 14 | 45,0 | 4 | 51,4 | 14 |
| 115,0 | 6 | 114,2 | 16 | 49,3 | 6 | 51,0 | 16 |
| 115,35 | 7 | 113,8 | 18 | 51,4 | 8 | 50,7 | 18 |
| 115,50 | 8 (Max.) | 113,4 | 20 | 51,8 | 9 | 50,4 | 20 |
| 115,40 | 9 | 112,6 | 24 | 51,9 | 10 (Max.) | 49,7 | 24 |
| Druckfall pro Stunde (von 12 bis 24 Stunden) 2,0 mm | | | | Druckfall pro Stunde (von 12 bis 24 Stunden) 1,7 mm | | | |

Der Druck sank dann, wie die Abb. 7 und 8 am besten zeigen, ganz kontinuierlich und mit derselben Geschwindigkeit in beiden

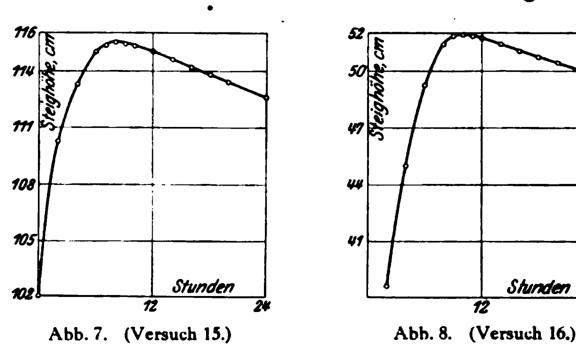


Abb. 7. (Versuch 15.) Abb. 8. (Versuch 16.)

Fällen, was nicht der Fall sein sollte, wenn eine Salzdiffusion in Versuch 16 gleichzeitig fortginge.

*Tabelle XII.* Versuche über die Einwirkung von Neutralsalzen auf den Druck von $Na_2HG$ (20°).

| Nr. | Mol. Konz. . $10^3$ im Gleichgewicht | | | | | Dauer der Dialyse | Maximumdruck, cm Wasser | Druck, berechnet *ohne Salz*, cm Wasser | Prozent. Erniedrigung $E = \frac{P_0 - P_{gef.}}{P_0} . 100$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $Na_2HG$ | | NaCl od. $MgCl_2$ | | | | | | |
| | I. n.*) | A. n. | I. v. A. v. | I. n. | A. n. | Stunden | $P_{gef.}$ | $P_0$ | |
| 17 | 2,70 | 0,04 | 1,00 | 0,83 | 1,01 | 8 | 107,7 | 166,5 | 35 |
| 18 | 2,29 | 0,09 | 2,00 | 1,80 | 2,03 | 17 | 82,2 | 137,0 | 40 |
| 19 | 2,54 | 0,05 | 4,00 | 3,76 | 4,03 | 7 | 74,6 | 155,7 | 52 |
| 20 | 2,40 | 0,06 | 8,00 | 7,67 | 8,07 | 9 | 51,7 | 146,1 | 65 |
| 21 | 2,60 | 0,06 | 16,00 | 15,59 | 16,10 | 8 | 46,4 | 158,7 | 71 |
| 22 | 2,36 | 0,05 | 1,00 | 0,89 | 1,02 | 6 | 47,1 | 144,4 | 67 |
| 23 | 2,29 | 0,08 | 2,00 | 1,77 | 2,03 | 5 | 36,7 | 137,8 | 73 |
| 24 | 2,44 | 0,05 | 4,00 | 3,58 | 4,06 | 5 | 32,7 | 149,4 | 78 |
| 25 | 2,30 | 0,07 | 8,00 | 7,40 | 8,08 | 5 | 31,0 | 139,1 | 78 |
| 14 | 1,33 | 0,00 | 1,00 | — | — | 4—24 | 7,5 | — | — |

*) I. = Innenflüssigkeit. A. = Außenflüssigkeit { v. = vor Dialyse. n. = nach Dialyse.

Versuche 17 bis 21 mit NaCl; 22 bis 25 mit $MgCl_2$; 14 mit thymonucleinsaurem $Na_4$ und NaCl.

Eine große Druckerniedrigung wurde überall durch Salz hervorgerufen, schon wenn die Salzkonzentration sehr klein war. $MgCl_2$ wirkte dabei stärker als NaCl, was teils auf der Zweiwertigkeit des Mg-Ions beruht, teils aber auf eine doppelte Umsetzung zwischen Na- und Mg-Ionen zurückzuführen ist.

Die Erniedrigung ist aber viel größer, als man durch die Verschiedenheit in Salzkonzentration nach den Leitfähigkeitsbestimmungen berechnen kann. Aller Wahrscheinlichkeit nach gelten die *Donnan*schen Gesetze auch hier. Die Schwierigkeit einer exakten Salzbestimmung und die Komplikation durch Ausdiffusion von Guanylat machen aber eine rechnerische Behandlung der Resultate unmöglich. Es wird deshalb auf eine weitere Deutung der Salzversuche verzichtet, und mag dieser Nachweis der Druckerniedrigung genügen.

**7. Salzbildung der Guanylsäure mit Ampholyten und basischen Eiweißkörpern.**

Die Nucleinsäuren kommen in der Natur wahrscheinlich immer zusammen mit Eiweiß vor.

Es ist deshalb für die Zellforschung von der größten Bedeutung, die Möglichkeiten zur Salzbildung zwischen diesen Säuren und Eiweiß bzw. anderen Ampholyten genauer kennenzulernen.

Um eine einfache mathematische Behandlung des Problems ausführen zu können, habe ich zuerst Verbindungen der Guanylsäure mit einer in bezug auf Konstitution und Dissoziationszustand bekannten Aminosäure untersucht.

Nimmt man an, daß die Guanylsäure nur zwei Wasserstoffatome abspaltet, was für saure Lösungen zulässig ist, so kann man sie mit $H_2R$ bezeichnen. Das Ampholyt mag mit HXOH bezeichnet werden. Dann können in der Mischung von beiden in Lösung folgende Moleküle und Ionenarten vorkommen: $H_2R$, HXOH, HXRH, $(HX)_2R$, $H^{\cdot}$, $OH'$, $HR'$, $R''$, $HX^{\cdot}$, $XOH'$, $HXR'$, $XRH'$, $HXRX'$, $XRX''$. Das System ist schon dann so kompliziert, daß eine Berechnung der Salzbildung nicht ohne Approximation möglich ist. Für den Fall, daß als Ampholyt Glykokoll gewählt wird, können mehrere solche durchgeführt werden. Die Wasserstoffionenkonzentration war dann in den untersuchten Lösungen nie kleiner als $10^{-3,5}$. Also wurde in allen Fällen viel mehr Guanylsäure zugesetzt als die Menge, die nötig war, um Glykokoll zur isoelektrischen Reaktion zu bringen. Deshalb dissoziiert die Säure nur ein Wasserstoffatom merklich ab, die saure Dissoziation des Glykokolls kann vollkommen vernachlässigt werden und das Salz HX—RH kann keine Wasserstoffionen abgeben. Das Salz bildet dann nur die Ionen $HX^{\cdot}$ und $RH'$. Ein Salz $(HX)_2R$, das sicher löslich und ionisiert wäre, fordert für seine Entstehung in meßbarer Menge $R''$-Ionen, die ja hier nicht meßbar vorkommen können. $(HX)_2R$ kann in den untersuchten sauren Lösungen demnach nicht existieren.

Dann gilt, mit den gewöhnlichen Bezeichnungen ($k_a$ und $k_b$ saure und basische Dissoziationskonstanten des Glykokolls, $k_w$ die des Wassers; $k_1$ die erste Konstante der Guanylsäure; $c_1$ und $c_2$ die molaren Konzentrationen an $H_2R$ bzw. HXOH):

$$\left.\begin{aligned}[HX^{\cdot}][OH'] &= k_b[HXOH] \quad (1)\\ [H^{\cdot}][OH'] &= k_w \quad (2)\\ [H^{\cdot}][HR'] &= k_1[H_2R] \quad (3)\end{aligned}\right\} \text{Nach dem Gesetz der Massenwirkung}$$

$$[H^{\cdot}]+[HX^{\cdot}] = [HR'] \quad \text{Elektroneutralitätsbedingung} \quad (4)$$

$$\left.\begin{aligned}[H_2R]+[HR']+[HXRH] &= c_1 \quad (5)\\ [HXOH]+[HX^{\cdot}]+[HXRH] &= c_2 \quad (6)\end{aligned}\right\} \text{Konzentrationsbedingungen}$$

Die salzartige Verbindung zwischen Guanylsäure und Glykokoll befindet sich in der Lösung teils undissoziiert als HX—RH-Moleküle von der Konzentration [HXRH], teils als $HX^{\cdot}$- und $RH'$-Ionen von gleicher Konzentration. Die $RH'$-Ionen der Lösung entstehen aber auch zum Teil durch Dissoziation von $H_2R$. Diese Menge an $HR'$-Ionen kann aber gleich der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung gesetzt werden, da die $H^{\cdot}$-Ionen fast ausschließlich aus $H_2R$ durch einfache Dissoziation herkommen. Die Konzentration an dissoziiertem „Salz" ist also gleich $[RH^{\cdot}]-[H^{\cdot}]$. Die Totalmenge an Salz ist dann $[HXRH] + [RH^{\cdot}] - [H^{\cdot}] = S$, was als Maß für die Salzbildung dienen kann.

Wird das Äquationssystem (1) bis (6) solviert, erhält man somit

$$[\mathrm{H\,X\,R\,H}] + [\mathrm{R\,H}^\cdot] - [\mathrm{H}^\cdot] = S = \frac{c_1 - [\mathrm{H}^\cdot] - \frac{[\mathrm{H}^\cdot]^2}{k_1}\left(\frac{k_b c_2}{k_w} + 1\right)}{1 - \frac{[\mathrm{H}^\cdot]^2 k_b}{k_1 k_w}}.$$

Bei 25⁰ wurden die Werte $k_b = 2{,}7 \,.\, 10^{-12}$, $k_w = 1{,}27 \,.\, 10^{-14}$ und $k_1 = 4{,}45 \,.\, 10^{-3}$ für die Berechnungen von $S$ verwendet, bei 18⁰ $k_b = 2{,}7 \,.\, 10^{-12}$, $k_w = 0{,}73 \,.\, 10^{-14}$ und $k_1 = 4{,}45 \,.\, 10^{-3}$. Da verschiedene Autoren für $k_b$ doch sehr weit voneinander liegende Werte gefunden haben, wurde der genannte Wert $k_b = 2{,}7 \,.\, 10^{-12}$ sowohl bei 25⁰ als auch bei 18⁰ verwendet, was ja prinzipiell unrichtig ist, aber keinen sehr großen Einfluß auf $S$ hat. Der Wert $k_1 = 4{,}45 \,.\, 10^{-3}$ bezieht sich in derselben Weise auf 20⁰. Da $k_1$ indessen sehr wenig mit der Temperatur variiert, ist dies ohne Bedeutung für das Resultat. Ohne Messung der Wasserstoffionenkonzentration konnte ich die Salzbildung nicht berechnen[1]). Ich habe deshalb [H˙] für verschiedene

*Tabelle XIIIa.* Die Salzbildung Glykokoll—Guanylsäure.

| Versuchs-temperatur | $[\mathrm{H}^\cdot] \,.\, 10^3$ | $c_1 \,.\, 10^3$ | $c_2 \,.\, 10^3$ | $S \,.\, 10^3$ | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 25⁰ | 4,86 | 10,1 | 0,0 | 0,00 | (100) |
| | 4,36 | 10,1 | 1,5 | 1,22 | 81 |
| | 3,94 | 10,1 | 3,0 | 1,74 | 58 |
| | 3,46 | 10,1 | 5,0 | 2,55 | 51 |
| | 3,06 | 10,1 | 7,5 | 2,86 | 38 |
| | 2,69 | 10,1 | 10,0 | 3,55 | 35,5 |
| 25⁰ | 4,83 | 10,0 | 0,0 | 0,00 | (100) |
| | 3,42 | 10,0 | 5,0 | 2,61 | 52 |
| | 2,63 | 10,0 | 10,0 | 3,75 | 37,5 |
| | 2,14 | 10,0 | 15,0 | 4,55 | 45,5 |
| | 1,78 | 10,0 | 20,0 | 5,28 | 53 |
| | 0,98 | 10,0 | 40,0 | 7,31 | 73 |
| | 0,78 | 10,0 | 50,0 | 7,86 | 79 |
| | 0,54 | 10,0 | 70,0 | 8,54 | 85 |
| | 0,47 | 10,0 | 80,0 | 8,73 | 87 |
| | 0,37 | 10,0 | 100,0 | 9,01 | 90 |
| 18⁰ | 3,00 | 5,0 | 0,0 | 0,00 | (100) |
| | 2,60 | 5,0 | 1,0 | 0,73 | 73 |
| | 2,12 | 5,0 | 2,6 | 1,44 | 55 |
| | 1,65 | 5,0 | 5,0 | 2,08 | 42 |
| | 1,21 | 5,0 | 10,0 | 2,56 | 51 |
| | 0,83 | 5,0 | 20,0 | 3,19 | 64 |
| | 0,41 | 5,0 | 50,0 | 3,91 | 78 |
| | 0,23 | 5,0 | 100,0 | 4,34 | 87 |

[1]) Durch eine siebente Gleichung, welche die Bedingung des Dissoziationsgleichgewichtes von dem Salze HX—RH enthalten sollte, würde eine rein rechnerische Lösung der Frage möglich werden. Diese Gleichung wäre aber im vorliegenden Falle ohne jeden Wert, da man nichts über die Dissoziation dieses Salzes voraussagen kann.

Mischungen von Guanylsäure und Glykokoll elektrometrisch gemessen und dann $S$ nach der obigen Formel berechnet. Die Resultate sind in vorstehender Tabelle XIII a zusammengestellt.

$P$ bezeichnet das prozentische Verhältnis zwischen der wirklichen Salzbildung $S$ und der Salzmenge, die entstehen sollte, wenn es sich um eine starke Säure und Base handelte. Diese prozentische Salzbildung beträgt bei äquimolaren Mengen Guanylsäure und Glykokoll bei den betreffenden Konzentrationen etwa 40 Proz. und wächst dann bei Überschuß der einen oder der anderen Komponente asymptotisch zu 100 Proz., wie aus den Abb. 9 und 10 hervorgeht.

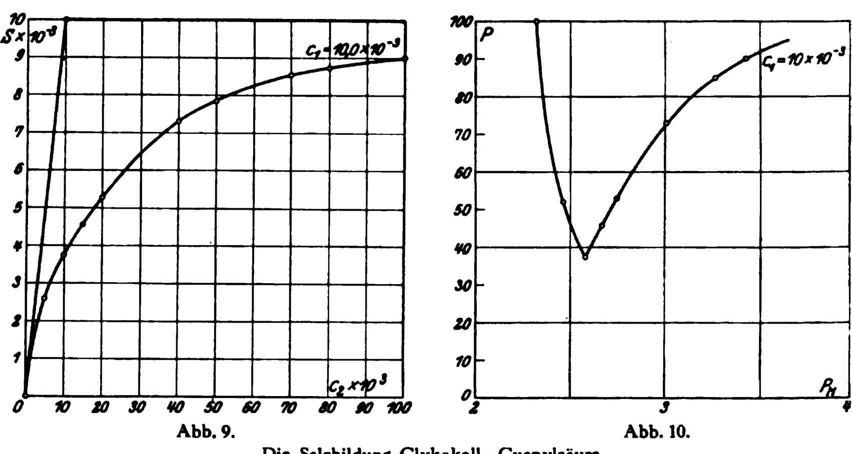



Abb. 9. Abb. 10.

Die Salzbildung Glykokoll—Guanylsäure.

Obgleich Glykokoll beinahe neutral reagiert und die Guanylsäure nur eine mittelstarke Säure ist, können sie sich also in bedeutendem Maße, wenn auch nie vollständig, verbinden. Die Verbindung der beiden Stoffe kann aber nicht in größeren Konzentrationen vorkommen, wenn nicht entweder die Reaktion stark sauer ist oder das Ampholyt in einem gewaltigen Überschuß vorkommt. Ohne Zweifel geht die Salzbildung zwischen neutralen Eiweißkörpern und Nucleinsäuren im allgemeinen in derselben Richtung wie die hier analysierte, sofern es sich um lösliche Verbindungen handelt. *E. Hammarsten* (2) konnte für das System Thymonucleinsäure—Glykokoll eine leicht hydrolysierbare Salzbildung nachweisen, indem das Glykokoll bei Dialyse rasch und vollständig ausdiffundierte.

Ganz anders verhält es sich bei einer ausgeprägt basischen Aminosäure, wie z. B. Lysin. Die Salzbildung ist hier selbstverständlich viel vollkommener, da die freie Aminogruppe bei neutraler Reaktion Salz bildet. Eine mathematische Behandlung der Salzbildung wird dann aber aus vielen Gründen erschwert.

Ich habe auch für Mischungen von Lysin und Guanylsäure die Wasserstoffionenkonzentration gemessen. Die Resultate sind in Tabelle XIIIb und Abb. 11 wiedergegeben.

*Tabelle XIIIb.*

Die Salzbildung Lysin — Guanylsäure (18°).

| Molare Konzentration an Guanylsäure, $c_1 \cdot 10^3$ | Molare Konzentration an Lysin, $c_2 \cdot 10^3$ | $-\log [H^{\cdot}] = p_H$ |
|---|---|---|
| 5,0 | 0,00 | 2,52 |
| 5,0 | 0,94 | 2,70 |
| 5,0 | 2,00 | 3,05 |
| 5,0 | 3,76 | 3,63 |
| 5,0 | 4,98 | 4,40 |
| 5,0 | 7,49 | 6,19 |
| 5,0 | 9,96 | 7,53 |
| 5,0 | 14,97 | 8,84 |
| 5,0 | 19,95 | 9,12 |
| 5,0 | 25,28 | 9,34 |

Das Lysin wurde aus dem Pikrat (von *K. Mörner* aus Horn dargestellt) mittels Äther und verdünnter Schwefelsäure in Sulfat übergeführt, aus dem letzteren die Schwefelsäure dann mit Barytwasser exakt weggenommen und der Lysingehalt der so bereiteten Vorratslösung durch Stickstoffbestimmung berechnet.

Aus der Kurve geht hervor, daß ein Salz aus 1 mol. Lysin + 1 mol. Guanylsäure die $[H]^{\cdot} = 10^{-4,4}$ hat (Inflexionspunkt der Kurve). 2 mol. Lysin + 1 mol. Guanylsäure reagiert beinahe neutral mit $[H^{\cdot}] = 10^{-7,6}$. Zum Vergleich ist hier auch die Salzbildung mit Glykokoll angedeutet.

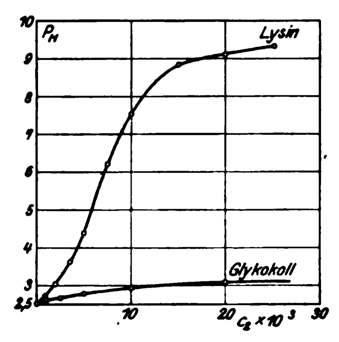



Abb. 11.
Die Salzbildung Lysin—Guanylsäure.

Auch mit überwiegend basischen Eiweißkörpern muß die Guanylsäure Verbindungen eingehen können. Ich habe das Histon in dieser Hinsicht untersucht.

Histon wurde aus Thymusdrüsen nach *Kossel* (11) gewonnen. Das mit Ammoniak ausgefällte Histon wurde in verdünnter HCl gelöst, während einer Woche gegen verdünnte HCl bei 0° und zuletzt noch eine Woche gegen reines Wasser dialysiert. Nach Zusatz von etwas HCl wurde endlich Histonchlorid mit Alkohol ausgefällt, mit Alkohol und Äther gewaschen und an der Luft getrocknet. Die wiederholte Umfällung und die langdauernde Dialyse waren notwendig, um ein Präparat, das nach Verbrennen mit Soda und Salpeter keine Phosphorreaktion gab und also nucleinsäurefrei war, zu bekommen.

0,1256 g des Präparates verbrauchten (*Kjeldahl*) 14,32 ccm n/10 HCl = 15,97 Proz. N.
0,0900 g des Präparates verbrauchten (*Kjeldahl*) 10,33 ccm n/10 HCl = 16,08 Proz. N.
0,1020 g des Präparates verbrauchten (*Kjeldahl*) 11,80 ccm n/10 HCl = 16,20 Proz. N.
Mittelwert 16,08 Proz. N.

Bei Chlorbestimmung (Verbrennung mit Soda und Salpeter, Titrierung nach *Mohr*) verbrauchten:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,3973 g | des Präparates | 6,83 ccm | n/10 | $AgNO_3$ | = 6,10 Proz. Cl. |
| 0,4022 g | „ „ | 6,87 „ | n/10 | „ | = 6,06 „ „ |
| 0,4272 g | „ „ | 7,40 „ | n/10 | „ | = 6,14 „ „ |
| | | | | Mittelwert | = 6,10 Proz. Cl. |

Dies gibt ein Atomverhältnis N : Cl = 13,34 : 2,00. Das Histonchlorid enthält also (rund) 13 Atome N auf 2 Atome Cl.

Versuche, durch Formoltitrierung die Zahl der freien Carboxylgruppen zu bestimmen, mißlangen, da eine weiße unlösliche Substanz bei dem Formalinzusatz ausfiel.

Das Präparat reagierte sauer, und deshalb wurde untersucht, wieviel NaOH zugesetzt werden mußte, um ein neutrales Chlorid ($p_H = 6,8$) zu bekommen. Dies wurde durch kolorimetrischen Vergleich mit einer Serie von *Sörensens* Phosphatmischungen, unter Zusatz von derselben Menge Dibromthymolsulfonphthalein als Indikator, ausgeführt. Eine Histonchloridlösung, die 0,133 mg-Atome Cl enthielt, verbrauchte dabei im Mittel (vier Versuche) 0,070 mg-Atome Na. Etwas weniger als die halbe Chlormenge, genauer bestimmt 47,4 Proz. der ganzen Menge, blieb also im neutralen Chlorid zurück. Man dürfte deshalb annehmen, daß in diesem das Verhältnis N : Cl = 13 : 1 war.

Der Kürze wegen wird im folgenden neutrales Histonchlorid HiCl, saures also HiCl . HCl geschrieben.

Freies Histon gewinnt man am besten aus dem Chlorid durch Fällung aus konzentrierter Wasserlösung mit einem geringen Überschuß an Ammoniak und sorgfältiges Auswaschen der schwerlöslichen Fällung bis zum Verschwinden der Chlorreaktion.

Das Histon zeigte beim Schütteln mit Wasser deutlich alkalische Reaktion. Wurde Guanylsäurelösung dann zugesetzt, verschwand die alkalische Reaktion erst bei Zusatz einer genügenden Säuremenge, um dann sofort in saure Reaktion überzugehen. Salzbildung trat also ein, das Produkt war aber in Wasser vollkommen unlöslich, denn die Flüssigkeit gab nach Filtrierung keine Spur einer Biuretreaktion.

Deshalb wurde versucht, wasserlösliche Verbindungen durch Vermischung einer Natriumguanylat- und einer Histonchloridlösung zu bekommen. Einige Vorversuche zeigen die Löslichkeitsverhältnisse:

1. Eine HiCl . HCl-Lösung wurde mit der in bezug auf Na und Cl äquivalenten Menge $Na_2HG$-Lösung tropfenweise versetzt. Ein Niederschlag entstand, der sich anfänglich in die Flüssigkeit auflöste, am Ende aber nicht mehr löslich war. Die Mischung reagierte sauer.

2. 2 HiCl + $Na_2HG$ gleichartiges Resultat.

3. Freies Histon, in NaOH gelöst, wurde von $Na_3G$ sofort gefällt.

4. HiCl + $NaH_2G$ : klare Lösung. Es konnte ein zweites Äquivalent $NaH_2G$ zugesetzt werden, ehe die Lösung gefällt wurde. Sie reagierte sauer und wurde von NaOH sofort gefällt.

Wenn also eine lösliche Guanylsäure-Histonverbindung auf diesem Wege überhaupt gebildet wurde, reagiert sie sauer. Überschuß an Guanylsäure und bei der Reaktion entstandenes Kochsalz müssen sich dann durch Dialyse wegschaffen lassen. Einen Nachteil einer solchen Reinigungsmethode bildet die Membranhydrolyse, die eine weitere Zersetzung der Verbindung bewirkt. Dies konnte doch nicht vermieden werden.

Für die Dialyseversuche wurden Kollodiumhülsen verwendet, die durch vier Aufgüsse von Kollodium alle 7 Minuten ohne weiteres Trocknen dargestellt waren. Diese Hülsen ließen in 24 Stunden Natriumguanylat bei den betreffenden Konzentrationen zur gleichen Konzentration in Innen- und Außenflüssigkeit durch. Histon wurde aber in derselben Zeit nur in sehr kleiner Menge durchgelassen. Eine Korrektion für die letztgenannte Menge war aber für die Berechnungen notwendig, und ich habe deshalb jede für die Versuche verwandte Hülse in bezug auf Histonpermeabilität kalibriert. Dies konnte durch Füllung der Hülsen mit HiCl . HCl-Lösungen und Stickstoffanalysen der Außenflüssigkeiten nach 24, 48 und 72 Stunden Dialyse geschehen. Die ausdiffundierte Stickstoffmenge war von der Konzentration der Innenflüssigkeit unabhängig und betrug 0,07 bis 0,01 mg bei Hülsen von 10 ccm Inhalt, 0,20 bis 0,30 mg bei Hülsen von 200 ccm Inhalt, was höchstens 1 Proz. der ganzen Stickstoffmenge bedeutete. Diesen Korrektionen ist im folgenden überall Rechnung getragen.

*Versuche zur Darstellung einer löslichen Histon-Guanylsäureverbindung.*

1. 48,0 ccm einer HiCl-Lösung, die nach Analysen 1,250 mg N pro Kubikzentimeter enthielt, wurde mit 51,0 ccm einer $NaH_2G$-Lösung, die nach Analysen 0,785 mg N pro Kubikzentimeter enthielt, gemischt. Die letztere Menge entspricht einem großen Überschuß an Guanylat. Dies war notwendig, teils um der Membranhydrolyse entgegenzuwirken, teils weil Kochsalz, wie spätere Versuche zeigten, auf die Histonverbindung spaltend einwirkt.

Die Lösung wurde in einer 200-ccm-Hülse unter Überdruck dialysiert, damit das Volumen sich nicht zu viel ändern sollte. Die Tempe-

ratur war 20⁰, und die Außenflüssigkeit, 1 Liter toluolgesättigtes destilliertes Wasser, wurde alle 12 Stunden gewechselt und auf Stickstoff analysiert.

Nach 5 × 12 Stunden wurden noch 49 ccm der obigen $NaH_2G$-Lösung zugesetzt, was jetzt ohne Trübung der Flüssigkeit geschehen konnte.

Nach weiteren 3 × 12 Stunden wurde die Dialyse abgebrochen und die Innenflüssigkeit auf Stickstoff, Phosphor, Chlor und Wasserstoffionen analysiert.

Eine Zusammenfassung der Zifferresultate ist in Tabelle XIV gegeben.

*Tabelle XIV.*

Guanylsaures Histon. „Dialyseversuch 1" (20⁰).

| Dauer der Dialyse Stunden | mg Guanylsäurestickstoff ausdiffundiert | mg Guanylsäurestickstoff zurück in der Innenflüssigkeit | mg Histonstickstoff zurück in der Innenflüssigkeit |
|---|---|---|---|
| 0—12 | 17,0 | 23,0 | 60,0 |
| 12—24 | 4,6 | 18,4 | 59,8 |
| 24—36 | 2,0 | 16,4 | 59,7 |
| 36—48 | 0,8 | 15,6 | 59,6 |
| 48—60 | 0,4 | 15,2 | 59,4 |
| 60—72 | 29,1 | 24,6 | 59,2 |
| 72—84 | 4,3 | 20,3 | 59,0 |
| 84—96 | 2,0 | 18,3 | 58,9 |
| 0—60 | 24,8 | 15,2 | 59,4 |
| 0—96 | 60,2 | 18,3 | 58,9 |

Da die Innenflüssigkeit nach Dialyse in 92 Stunden 187 ccm betrug, muß sie zusammen 0,413 mg N pro Kubikzentimeter enthalten. Direkte Stickstoffbestimmung gab 0,414 mg/ccm. Beim Eindampfen von 50 ccm der Lösung und Phosphorbestimmung (*Neumann* und *Woy*) wurden 0,0062 g $Mg_2P_2O_7$ erhalten. Diese Menge entspricht für die ganze Flüssigkeit 14,6 mg Guanylsäurestickstoff, während oben 18,3 mg berechnet wurden. Die Übereinstimmung ist genügend, da man bei so kleinen Mengen kaum bessere Werte erwarten kann. Zuletzt wurden 20 ccm der Lösung auf Chlor in gewöhnlicher Weise analysiert. Bei Zusatz von $AgNO_3$ entstand (nach Verbrennung) keine wahrnehmbare Trübung. Die $[H^\cdot]$ der Lösung war $10^{-5,02}$.

Als eine Zusammenfassung kann gesagt werden:

Histonchlorid und Natriumguanylat reagieren, wenigstens zum Teil, unter Bildung von Kochsalz zu einer sauer reagierenden, löslichen, salzartigen Verbindung, Histonguanylat. Das Kochsalz kann durch Dialyse weggenommen werden, wobei ein Guanylatüberschuß der Zersetzung der Verbindung durch Membranhydrolyse entgegenwirkt. Durch

nochmaligen Zusatz von Natriumguanylat wird kaum mehr Guanylsäure an Histon gebunden. Die Zusammensetzung der erhaltenen Verbindung zwischen Histon und Guanylsäure kann, trotz der vollständigen Umsetzung zwischen Natrium und Chlor, nicht aus den im Anfang zugesetzten Mengen HiCl und $NaH_2G$ berechnet werden, weil offenbar eine Spaltung durch Membranhydrolyse eingetreten war. Eine Berechnung der Stickstoffanalysen führt approximativ zu dem Verhältnis Histonstickstoff : Guanylsäurestickstoff = 3,2 : 1, während 1 Äquivalent Histon auf 1 Mol. Guanylsäure einem Verhältnis 2,6 : 1 entspricht. Nur etwa die halbe von Anfang an zugesetzte Guanylsäuremenge blieb also in der Verbindung zurück.

Es wäre vorteilhaft, die Verbindung in konzentrierterer Lösung darzustellen, besonders für die folgenden Salzversuche. Dann ist es bequemer, von dem leichtlöslichen, sekundären Natriumguanylat, z. B. Präparat A, auszugehen und dieses Salz mit saurem Histonchlorid zu versetzen.

2. 0,6250 g HiCl . HCl, zu 50 ccm gelöst (= 100,5 mg N), und 0,4042 g $Na_2HG$, zu 50 ccm gelöst (= 62,0 mg N), wurden vermischt und gegen 1000 ccm Wasser dialysiert. Die Mischung enthielt so viel $Na_2HG$, daß sie stark getrübt, aber nicht gefällt war; sie wurde während der Dialyse völlig klar. Tabelle XV gibt die Resultate der Dialyse wieder.

*Tabelle XV.* Guanylsaures Histon. „Dialyseversuch 2" (20°).

| Dauer der Dialyse Stunden | mg Guanylsäurestickstoff ausdiffundiert | mg Guanylsäurestickstoff zurück in der Innenflüssigkeit | mg Histonstickstoff zurück in der Innenflüssigkeit |
|---|---|---|---|
| 0—12 | 19,4 | 42,6 | 100,5 |
| 12—24 | 9,5 | 33,1 | 100,4 |
| 24—36 | 3,9 | 29,2 | 100,2 |
| 36—48 | 2,2 | 27,0 | 100,0 |
| 0—48 | 35,0 | 27,0 | 100,0 |

Die Innenflüssigkeit, 140,4 ccm, enthielt nach 48 Stunden 27,0 mg N in Guanylsäure gebunden, und 100,0 mg N in Histon gebunden, also zusammen 0,905 mg N pro Kubikzentimeter. Direkte Stickstoffbestimmung an der Lösung gab 0,905 mg N pro Kubikzentimeter. Da die Lösung sowohl von primärem als auch von sekundärem Natriumguanylat sofort gefällt wurde, konnten keine weiteren Mengen dieser Salze zugefügt werden.

50 ccm der Lösung wurden auf Chlor analysiert. 0,05 ccm n/10 $AgNO_3$ wurden verbraucht, was 0,5 mg Cl in der ganzen Lösung entspricht, oder etwa 1,3 Proz. der anfänglichen Chlormenge. Die Lösung war also nicht vollkommen, aber sehr nahe chlorfrei. Ihre Wasserstoffionenkonzentration war $10^{-4,41}$. Diese Verbindung ist

offenbar nicht mit derjenigen von Versuch 1 identisch. Das Verhältnis $\frac{\text{Histonstickstoff}}{\text{Guanylsäurestickstoff}}$ war 3,7 : 1; für 1 HiCl . HCl auf 1 $Na_2HG$ berechnet sich wie oben 2,6 : 1.

Die Reaktion zwischen Natriumsalzen der Nucleinsäuren und chlorwasserstoffsauren Salzen der Eiweißkörper ist in vielen Fällen reversibel, was unter anderem dadurch gezeigt werden kann, daß die Verbindung zwischen Nucleinsäure und Eiweiß durch Kochsalz gespalten wird. Dieses wird schon durch die Darstellung von Thymonucleinsäure (12) aus der Thymusdrüse wahrscheinlich, indem das Nucleohiston dieser Drüse durch Kochsalz glatt gespalten wird. Um diese spaltende Wirkung von Kochsalz zu untersuchen, wurden folgende Versuche gemacht. 9 ccm des Dialysats von Versuch 1 oder 2 wurden mit je 1 ccm Kochsalzlösung von verschiedenen Konzentrationen versetzt und in kleinen, geschlossenen Kollodiumhülsen gegen 110 ccm NaCl-Lösung von derselben Stärke wie innerhalb der Hülse dialysiert (toluolgesättigte Flüssigkeiten). Alle 12 Stunden wurden neue Außenflüssigkeiten aufgefüllt. Die ausdiffundierte Guanylatmenge wurde durch Mikrostickstoffbestimmung nach *I. Bang* erhalten (n/400 HCl und n/200 $Na_2S_2O_3$, Genauigkeit etwa $\pm$ 0,03 mg N). Das Na-Guanylat kommt von dem Histonguanylat teils durch Membranhydrolyse, teils durch die spaltende Wirkung des Kochsalzes. Durch Parallelversuche mit kochsalzfreien Lösungen wurde die Einwirkung der Membranhydrolyse bestimmt. Die Versuchstemperatur war 20°.

*Tabelle XVI.*

Versuche über die Spaltung des Histonguanylats durch NaCl (20°). Die Innenflüssigkeit enthielt anfänglich bei jedem Versuch 0,88 mg N in Guanylsäure-, 2,84 mg N in Histonbindung, zusammen 3,72 mg N („Dialyseversuch 1").

| Nr. | Konzentration an NaCl . $10^3$ | mg N in der Außenflüssigkeit nach | | | | mg Stickstoff zurück in der Innenflüssigkeit | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0—12 Std. | 12—24 Std. | 24—36 Std. | 0—36 Std. | Totalstickstoff | Guanylsäurestickstoff |
| 1 | 0 | 0,22 | 0,15 | 0,10 | 0,47 | 3,25 | 0,47 |
| 2 | 0 | 0,20 | 0,10 | 0,07 | 0,37 | 3,35 | 0,57 |
| 3 | 0 | 0,26 | 0,16 | 0,08 | 0,50 | 3,22 | 0,44 |
| 4 | 0 | 0,21 | 0,06 | 0,05 | 0,32 | 3,40 | 0,62 |
| 5 | 1 | 0,46 | 0,16 | 0,12 | 0,74 | 2,98 | 0,20 |
| 6 | 2 | 0,46 | 0,14 | 0,11 | 0,71 | 3,01 | 0,23 |
| 7 | 4 | 0,51 | 0,14 | 0,09 | 0,74 | 2,98 | 0,20 |
| 8 | 8 | 0,64 | 0,19 | 0,14 | 0,97 | 2,75 | — 0,03 |
| 9 | 16 | 0,63 | 0,20 | 0,11 | 0,94 | 2,78 | ± 0,00 |
| 10 | 32 | 0,71 | 0,18 | 0,10 | 0,99 | 2,73 | — 0,05 |
| 11 | 64 | 0,75 | 0,10 | 0,10 | 0,95 | 2,77 | + 0,01 |
| 12 | 128 | 0,70 | 0,15 | 0,09 | 0,94 | 2,78 | ± 0,00 |

*Tabelle XVII.*

Versuche über die Spaltung des Histonguanylats durch NaCl (20°). Die Innenflüssigkeit enthielt anfänglich bei jedem Versuch 1,76 mg N in Guanylsäurebindung, 6,71 mg N in Histonbindung, zusammen 8,17 mg N (Dialyseversuch 2).

| Nr. | Konzentration an NaCl . $10^3$ | mg N in der Außenflüssigkeit nach | | | | mg N zurück in der Innenflüssigkeit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Totalstickstoff | | Guanylsäurestickstoff |
| | | 0–12 Std. | 12–24 Std. | 24–36 Std. | 0–36 Std. | berechnet | direkte Analyse | |
| 1 | 0 | 0,70 | 0,18 | 0,10 | 0,98 | 7,19 | 7,26 | 0,93 |
| 2 | 1 | 1,05 | 0,35 | 0,14 | 1,54 | 6,63 | 6,64 | 0,37 |
| 3 | 2 | 1,23 | 0,45 | 0,22 | 1,90 | 6,27 | 6,38 | + 0,01 |
| 4 | 4 | 1,36 | 0,38 | 0,18 | 1,92 | 6,25 | 6,35 | — 0,01 |
| 5 | 8 | 1,47 | 0,32 | 0,12 | 1,91 | 6,26 | 6,27 | ± 0,00 |
| 6 | 16 | 1,48 | 0,34 | 0,10 | 1,92 | 6,25 | 6,30 | — 0,01 |

Beim Histonguanylat vom Versuche 1 diffundierte etwas Guanylat schon ohne Salzzusatz aus, so daß im Mittel nach 3 × 12 Stunden 0,52 mg Guanylsäurestickstoff innen zurückblieb. Schon durch $1 . 10^{-3}$ n NaCl wurde aber eine wesentlich erhöhte Spaltung hervorgerufen, die mit der Kochsalzkonzentration wuchs, um bei $8 . 10^{-3}$ n NaCl sogar vollständig zu werden.

Noch stärker war die spaltende Wirkung des Salzes auf Histonguanylat vom Versuche 2, indem hier die Zersetzung schon mit $2 . 10^{-3}$ n NaCl in 3 × 12 Stunden vollständig war.

Die Resultate stimmen qualitativ mit denjenigen einer Untersuchung von *E. Hammarsten* (2) über die Kochsalzwirkung auf thymonucleinsaures Lysin bei Dialyse überein. Hier wurde eine Spaltung in Lysinchlorid und thymonucleinsaurem Natrium durch Kochsalz hervorgerufen. Lysinchlorid diffundierte dabei aus und konnte durch Formoltitrierung bestimmt werden. *E. Hammarsten* hat auch Doppelsalze zwischen Thymonucleinsäure, Histon und Natrium untersucht. Da keine Ionen hier diffusibel waren, konnte die Spaltung durch Kochsalz nicht durch Dialyse verfolgt werden. Die Verbindungen waren wasserlöslich, nur wenn sie 2 Atome Na pro Molekül Nucleinsäure enthielten, und reagierten dann im Gegensatz zum Histonguanylat neutral. Durch Viskositätsmessungen konnte eine Spaltung durch Neutralsalze, wie oben, in hohem Grade wahrscheinlich gemacht werden.

Ich habe weiter versucht, den Gleichgewichtszustand der umkehrbaren Reaktion Natriumguanylat + Histonchlorid $\rightleftarrows$ Histonguanylat + Natriumchlorid durch Schütteln der unlöslichen Histon-Guanylsäureverbindung (S. 506) mit einer Kochsalzlösung zu bestimmen. Auf diese Verbindung hat das Salz indessen eine sehr unbedeutende Einwirkung, wie Stickstoffbestimmungen an den Filtraten nach mehr-

stündigem Schütteln zeigten. Von 14 mg totalem N in der unlöslichen Verbindung wurden maximal 1,24 mg N in einem Filtrat von 25 ccm wiedergefunden, und die Lösung zeigte keine Biuretreaktion.

Es kann angenommen werden, daß die Spaltung von Nucleinsäure-Eiweißsalzen durch Neutralsalze unter doppelter Umsetzung eine hervorragende Rolle in den Zellen spielen kann, wo derartige Salze vorkommen. Da man in den Zellen abwechselnd kolloidärmere und kolloidreichere Phasen annehmen kann, so folgt daraus, daß reichliche Bedingungen für verschiedene Diffusionsgeschwindigkeiten da vorhanden sind, und damit auch die Bedingungen für Spaltung eventuell vorkommender Nucleinsäureverbindungen durch Neutralsalzwirkung bei fortschreitender Dialyse.

### 8. Der osmotische Druck einiger hochmolaren Elektrolyte.

Der osmotische Druck von verdünnten Lösungen der Nichtelektrolyte folgt nach *van 't Hoff* den Gasgesetzen. Mit Hilfe von diesen kann man berechnen, daß eine $c$-molare Lösung bei 20° einen osmotischen Druck von $P_0 = 24{,}67 \,.\, 10^3 \,.\, c$ cm Wasser haben soll (eine Zahl, die für alle Druckberechnungen in dieser Arbeit verwendet wurde). Für Elektrolyte wird im allgemeinen ein höherer Druck gefunden ($P_{\text{gef.}}$). Das Verhältnis $P_{\text{gef.}}/P_0 = i_{\text{osm.}}$ ist also größer als 1. *Arrhenius* hat dieses Verhältnis durch die Annahme einer partiellen Dissoziation erklärt. Wenn der Dissoziationsgrad, durch elektrische Leitfähigkeitsbestimmung berechnet, $\alpha$ ist, so zeigt die Zahl $i_{\text{el.}} = 1 + (m - 1)\,\alpha$ ($m$ = Anzahl Ionen aus 1 Mol.) die relative Vermehrung der Partikeln durch die Dissoziation. *Arrhenius'* Theorie fordert dann $i_{\text{osm.}} = i_{\text{el.}}$ für verdünnte Lösungen. Da aber besonders die starken Elektrolyte Abweichungen von dem letztgenannten Gesetz zeigen, die sogar in verdünnten Lösungen am deutlichsten hervortreten, hat man bekanntlich in neuerer Zeit versucht, die Abweichungen dieser Verbindungen auf die elektrischen Ladungen der Ionen zurückzuführen. Nach dieser Theorie sollten die starken Elektrolyte auch in konzentrierteren Lösungen in Ionen vollständig zerfallen sein. Daß der osmotische Druck trotzdem kleiner als $P_k = m \,.\, P_0$ ist, soll dann durch die elektrostatischen Kräfte, die zwischen den Ionen der Lösung wirken, verursacht werden. Besonders *Bjerrum*, *Debye* und *Hückel* haben diese Theorie mathematisch durchgeführt. Sie konnten die Druckerniedrigung $\frac{P_k - P_{\text{gef.}}}{P_k} = \Theta$ aus der potentiellen Energie der Lösung berechnen und erhielten so eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Theorie und Erfahrung, besonders in verdünnten Lösungen. Zugleich kamen die Verfasser aber zu dem Schluß, daß bei den schwachen Elektrolyten ein Dissoziationsgleichgewicht bestehen muß.

Es gibt indessen Stoffe, deren Abweichungen von dem osmotischen Druck $P_k$ so groß sind, daß sie mit keiner der genannten Theorien allein erklärt werden können. Dies wurde z. B. vor langem für die kolloiden Lösungen beobachtet und auf eine weitgehende Aggregation zurückgeführt, aber auch einige Substanzen, deren Lösungen vollkommen optisch leer sind, geben wesentlich kleinere Drucke, als man nach der einen oder nach der anderen Theorie fordern kann. Es ist für diese Substanzen gemeinsam, daß sie aus einem sehr großen Ion in Verbindung mit einem kleinen, wie $H^{\cdot}$, $Na^{\cdot}$, $Cl'$, bestehen. Wegen des größeren Ions und der elektrischen Ladungen können diese Stoffe nicht durch eine Membran diffundieren. Sie werden der Bequemlichkeit wegen im folgenden „Kolloidelektrolyte" genannt. Bisher vorliegende Messungen an diesen Substanzen haben zu der Ansicht geführt, daß sie immer einen abnormen osmotischen Druck haben sollten.

Die Guanylsäure und ihre Salze können zu dieser Klasse gerechnet werden, da sie stark dissoziieren, aber außerordentlich langsam diffundieren. Meine Messungen an diesen Verbindungen, die ja noch mehr hochmolekular sind, als z. B. die stark druckabweichenden Natriumsalze der höheren Fettsäuren, zeigen dann aber, daß nicht immer Abnormität des Druckes bei derartigen Stoffen auftritt.

Von Untersuchungen aus diesem Gebiete sollen nur einige angeführt werden, die für vorliegende Arbeit von Interesse sein können. *Biltz* und *Vegesack* (13), *Bayliss* (14), *Donnan* und *Harris* (10b) haben den Druck von Kongorot, *Blitz* allein (13) auch den Druck von einigen anderen Farbstoffen, z. B. Brillantkongo, Kongoreinblau und Chicagoblau, gemessen. *Loeb* (15) hat Lösungen von Gelatinchlorid in HCl untersucht; *Krafft* (16) und *Moore* und *Parker* (17) einige hochmolekulare fettsaure Salze. Weiter hat *E. Hammarsten* (2) eine Reihe von Salzen der Thymonucleinsäure auf ihren osmotischen Druck untersucht. Bald nach der vorliegenden Arbeit wurde auch der Druck einiger Amminsalze der Kongosäure von *Jorpes* und *Hellgren* (18) gemessen.

Eine kurze Beschreibung der Resultate der genannten Autoren mag hier folgen. Auf dieselben komme ich später in meiner Darstellung zurück.

Die Kongosäure, $C_{32}H_{22}N_6(SO_3H)_2$, ist eine zweibasische Säure vom Molekulargewicht 652,4. Die Säure ist ziemlich schwach. Kongorot, das Natriumsalz, wurde deshalb bei den angeführten Untersuchungen in den Membranen mit der Zeit hydrolysiert, was schwer zu verhindern oder in den Resultaten zu berechnen war. Auf Grund der Hydrolyse bei größeren Verdünnungen konnte der Dissoziationsgrad nicht genau bestimmt werden. Doch war ohne Zweifel die Dissoziation des Natriumsalzes sehr weitgehend, in jenen verdünnten Lösungen vielleicht bei-



nahe vollständig. Der osmotische Druck sollte deshalb einen Faktor $i_{osm.}$ nur wenig kleiner als 3 geben. Statt dessen fanden die Verfasser $i_{osm.} = 0,90$ bis 0,97, d. h. der Druck war etwa 90 bis 97 Proz. von dem für den undissoziierten Zustand berechneten. Um dies zu erklären, nehmen *Biltz* und *Vegesack* an, daß Kongorot zum Teil aggregiert und zum Teil dissoziiert sein sollte, und daß diese beiden Faktoren einander so entgegenwirken sollten, daß ein Druck etwa wie für den undissoziierten (und natürlich auch unaggregierten) Zustand resultierte. Diese Erklärungsweise kann gar nicht bewiesen werden und ist überhaupt sehr unwahrscheinlich. Für viele Substanzen ist die Erklärung sicher unrichtig. — Nach Messungen von *Jorpes* und *Hellgren* ist der Druck von Kongorot ein wenig höher. Sie fanden $i_{osm.} = 1,20$. — *Donnan* meint, offenbar in Anerkennung der Unhaltbarkeit in der erwähnten Betrachtungsweise, daß bei Kolloidelektrolyten das diffusible Ion von dem nicht diffusiblen elektrostatisch so festgehalten werde, daß es osmotisch unwirksam wird; der Druck sollte also nur von den nicht diffusiblen Ionen — und den Molekülen — herkommen. Diese Erklärung ist bei allen von mir untersuchten Substanzen unbefriedigend. Es ist dann z. B. ganz unerklärlich, daß die Guanylsäure und ihr Na-Salz in osmotischer Hinsicht völlig normal sind, denn hier werden H- oder Na-Ionen elektrostatisch von dem nicht (oder richtiger nur sehr wenig) diffusiblen Guanylation festgehalten. Nach *Donnan* würde die Erscheinung wohl als irgend ein Membraneffekt aufzufassen sein, also nicht auftreten, wenn der Druck ohne Membran gemessen wurde. Ich habe den Druck teils mit Membran, teils ohne (kryoskopisch) gemessen und überall, wie nach der Theorie für den osmotischen Druck zu erwarten war, dieselben Druckwerte bekommen, woraus die Unhaltbarkeit der *Donnan*schen Hypothese wenigstens für die untersuchten Substanzen hervorgeht.

Bei der dreibasischen Sulfosäure Brillantkongo, von dem Molekulargewicht 826,5, war $i_{osm.}/i_{el.}$ nach *Biltz* 0,50 bis 0,54 bei einem Dissoziationsgrad von 0,9 bis 0,8. Der Druck war also wesentlich größer als für einen undissoziierten Zustand, aber nur etwa halb so groß, wie man nach dem Dissoziationsgrad erwarten sollte. Kongoreinblau und Chicagoblau, zwei isomere Tetrasulfonsäuren, gaben der Größenordnung nach gleichartige Werte von $i_{osm.}/i_{el.}$. Auf S. 535 sind die Resultate von *Biltz* über diese drei Farbstoffe wiedergegeben und aus besonderen Gesichtspunkten umgerechnet.

*Loeb* hat den Druck von Gelatin-Salzsäuremischungen gemessen. Er maß dabei elektrometrisch die Wasserstoffionenkonzentration innerhalb und außerhalb der Membran und konnte dann aus *Donnans* Gleichungen (10) die Chlorionenkonzentration berechnen. Auch durch Titrierung wurde diese berechnet. Die beiden Methoden gaben in der

Hauptsache dieselben Werte innerhalb ziemlich weiter Fehlergrenzen. *Loeb* fand dann, daß der allein aus der Verteilung der H- und Cl-Ionen berechnete Druck mit dem gemessenen Druck einigermaßen übereinstimmte. In sehr schwach sauren Lösungen war der berechnete Druck ein wenig kleiner als der gefundene; den Drucküberschuß schrieb *Loeb* den Proteinionen zu. In stärker sauren Lösungen war der gefundene Druck aber kleiner als der für nur Cl- und H-Ionen berechnete. Dies schrieb *Loeb* Versuchsfehlern zu. Da Gelatinchlorid in diesen Lösungen sicher stark dissoziiert war und die Proteinionen also erheblich zu dem Druck beitragen müssen, vielleicht auch einigermaßen die undissoziierten Moleküle, folgt aus diesen Versuchen, daß wenigstens bei gewissen H-Ionenkonzentrationen der Druck von Gelatinchlorid abnorm ist. Wegen der großen Unsicherheit, sowohl bei der Cl'-Bestimmung, die ja vielleicht zweckmäßiger direkt elektrometrisch auszuführen gewesen wäre, als in der Druckmessungsmethode, ist es aber schwierig, die Resultate sicher zu deuten.

*Krafft* und seine Mitarbeiter fanden durch Bestimmung des Siedepunktes von hochmolaren fettsauren Salzen stark abnorme Drucke für diese Substanzen, so auch *Moore* und *Parker*, die den Druck direkt maßen. Diese Untersuchungen sind von vielen unbestimmten oder gar unbestimmbaren Faktoren beeinflußt. So wurde z. B. auf die ganz erhebliche Hydrolyse keine Rücksicht genommen. Die Substanz war, wie diese Autoren betonen, nicht in molekulardispersem Zustande in der Lösung, der Siedepunkt war mit der Zeit veränderlich, und bei den Versuchen von *Moore* und *Parker* diffundierte sogar kein Alkali aus. Es können deshalb aus diesen Untersuchungen kaum einige sichere Schlüsse über den Zusammenhang zwischen osmotischem Druck und Dissoziation gezogen werden.

Bei den Druckmessungen an Thymonucleinsäure und deren Na-Salz von *E. Hammarsten* bildete die Säure in Wasser eine kolloide Lösung, deren Druck, $P_i$, im Mittel 70 Proz. des für den undissoziierten Zustand berechneten $P_I$ war. Da die Konzentration der H-Ionen dabei etwa 90 Proz. der totalen Säurekonzentration ausmachte, gab die Säure in Wasserlösung einen niedrigeren Druck, als theoretisch die Wasserstoffionen allein geben sollten. Das Natriumsalz der Thymonucleinsäure gab konstant bei verschiedenen Konzentrationen $P_i / P_I = 0{,}78$, was als eine Aggregation zu 22 Proz. gedeutet wurde. Demnach wäre der beobachtete Druck gleich demjenigen des undissoziierten Salzes. Über die Zifferwerte s. Tabelle XX.

Da die Guanylsäure sich osmotisch normal verhält

$$\left[i_{\text{osm.}} = i_{\text{el.}} \cdot \left(1 \pm \frac{0{,}4}{100}\right)\right],$$

und da eine der größten Verschiedenheiten zwischen dieser Säure und der übrigens chemisch nahe verwandten Thymonucleinsäure[1]) die Molekulargröße ist, lag es nahe zu denken, daß diese für die Normalität oder Abnormität des Druckes entscheidend sei. Zunächst könnte man wohl dabei an das Molekulargewicht denken; vielleicht konnte das Molekularvolumen auch in Frage kommen.

Um dies zu untersuchen, habe ich den Druck einiger Substanzen mit Molekulargewicht und Molekularvolumen zwischen oder nahe an denjenigen der Guanylsäure und der Thymonucleinsäure gemessen. Am besten würde die Sache klargelegt werden, wenn man eine Serie von Nucleinsäuren von gleicher Valenz, aber steigendem Molekulargewicht für die Untersuchung verwendete. Ich konnte indessen keine solchen, die einheitlich, beständig und nicht allzu schwer darstellbar waren, finden und mußte deshalb zu anderen Körperklassen übergehen.

Damit eine Substanz für diese Untersuchungen geeignet sein soll, muß sie folgende Forderungen erfüllen.

1. Sie muß eine starke Säure oder Base oder ein Salz von diesen sein.
2. Sie muß ein Molekulargewicht oder -volumen zwischen oder nahe an denjenigen von Guanylsäure und Thymonucleinsäure haben.
3. Um den Resultaten eine mathematische Behandlung geben zu können, sollen Molekulargewicht und Valenz der Ionen bekannt sein.
4. Es ist ein wesentlicher Vorteil, wenn die Substanz ein seiner Konzentration nach leicht meßbares Ion, z. B. $H^{\cdot}$ oder $Cl'$, enthält.
5. Die Substanz muß beständig und darf nicht allzu schwer in reinem Zustande zu bekommen sein.

Beim Durchgang dieser Forderungen findet man bald, daß es sehr wenige für eine Untersuchung geeignete Substanzen gibt. Die einzigen, die ich habe erhalten können, sind die beiden Gallensäuren Glykochol- und Taurocholsäure nebst den basischen Eiweißkörpern Histon und Protamin. Die beiden letztgenannten erfüllen zwar nicht die wichtigste Forderung (3), sind aber in anderen Hinsichten von Interesse, insbesondere deshalb, weil sie eine große biologische Bedeutung als Bausteine gewisser Zellkerne haben.

Alkaloide mit genügend hohem Molekulargewicht könnten auch für eine Untersuchung verwendet werden. Ich habe noch keine finden können, die sicher einheitlich und rein waren.

---

[1]) Auch der Milnereffekt spielt für den Druck der Thymonucleinsäure eine nicht unbedeutende Rolle, indem die interionischen Kräfte dank der Vierwertigkeit des Thymonucleinsäureions ziemlich groß auch in sehr verdünnten Lösungen werden können. Siehe weiter S. 540.

Eine kurze Beschreibung über die Herstellung und den Reinheitsgrad der verwandten Substanzen ist hier notwendig, da es für die Beurteilung der Resultate von der größten Bedeutung ist, daß alles Material vollkommen rein war. Schon winzige Mengen Neutralsalze vermindern z. B. den osmotischen Druck ganz erheblich.

*Die Glykocholsäure*, $C_{26}H_{43}O_6N = 465{,}4$, ist einbasisch. Es wurde ein Präparat von *Th. Schuckart* (rein weißes, in heißem Wasser ohne Rückstand lösliches Kristallpulver) verwendet. Dieses wurde zuerst bei 60° unter 10 mm Druck über $P_2O_5$ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, was etwa 3 Wochen in Anspruch nahm. Es wurde dann nach *Kjeldahl* auf Stickstoff analysiert. Die Verbrennung ist bei den Gallensäuren sehr langweilig und muß mittels Oxydation ($KMnO_4$) beendigt werden.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,3112 g | verbrauchten | 6,55 ccm | n/10 HCl | = 2,95 Proz. | N. |
| 0,2985 g | „ | 6,48 „ | n/10 „ | = 3,04 „ | N. |
| 0,3277 g | „ | 6,92 „ | n/10 „ | = 2,96 „ | N. |
| | | | Mittelwert | = 2,98 Proz. | N. |

Theoretisch nach obiger Formel 3,01 Proz. N.

Beim Einäschern von 0,4029 g mit $H_2SO_4$ wurde kein wägbarer Rückstand erhalten.

Die Säure ist bekanntlich in Wasser sehr schwer löslich. Um eine nicht zu verdünnte Wasserlösung des Natriumsalzes zu bekommen, wurde eine eingewogene Menge der Säure in Wassersuspension mit der berechneten Menge NaOH versetzt und der Stickstoffgehalt der klaren Lösung bestimmt.

*Taurocholsäure*, $C_{26}H_{45}NSO_7 = 515{,}6$. Durch Prof. *O. Hammarsten* bekam ich ein Präparat von Natriumtaurocholat, das bis auf einen geringen Gehalt an Kochsalz vollkommen rein war. Fast alles Kochsalz konnte durch wiederholtes Auslösen mit absolutem Alkohol (über Na destilliert) und Ausfällen mit absolutem Äther entfernt werden. Für die Druckbestimmungen war es von Wichtigkeit, den Kochsalzgehalt genau zu kennen, und dieser wurde durch elektrometrische Cl′-Bestimmung bekannt. Eine n/10 (etwa 5,5 proz.) Lösung von dem Salze gab dabei eine Cl′-Konzentration von $7 \,.\, 10^{-4}$, was etwa 0,004 Proz. NaCl entspricht. Dieser Kochsalzgehalt war ganz ohne Bedeutung bei den Druckbestimmungen, da die Lösungen dann sehr verdünnt waren und die Außenflüssigkeiten sehr großes Volumen hatten. Nach der Erfahrung bei Cl′-Bestimmung in Gegenwart von Guanylaten war es aber auch notwendig, die Meßmethode zu kontrollieren. Kochsalz wurde deshalb zu der Taurocholatlösung bis zu einer berechneten Chlorionenkonzentration von $10^{-2}$ zugesetzt. Bei der Messung wurde $[Cl'] = 8{,}6 \,.\, 10^{-3}$ wiedergefunden. Der Größenordnung nach war obige

Bestimmung also richtig. Nach Trocknung zu konstantem Gewicht, wie oben für Glykocholsäure, wurden folgende Werte erhalten.

0,3637 g verbrauchten 6,62 ccm n/10 HCl = 2,55 Proz. N
0,4521 g „ 8,26 „ n/10 „ = 2,56 „ N
0,3911 g „ 7,15 „ n/10 „ = 2,56 „ N
Mittelwert 2,56 Proz. N. (Theoretisch 2,61 Proz. N.)

0,5408 g gaben 0,2256 g $BaSO_4$ = 5,73 Proz. S
0,5843 g „ 0,2489 g „ = 5,85 „ S
Mittelwert 5,79 Proz. S. (Theoretisch 5,96 Proz. S.)

Das Verhältnis S : N wird also 2,26.
Theoretisch für 1 S : 1 N = 2,28.

Um die freie Säure darzustellen, wurde eine 5proz. Lösung des reinen Natriumsalzes mit Bleiessig und verdünntem Ammoniak bis zur maximalen Fällung versetzt. Das Bleisalz der Taurocholsäure bildete eine zähe, halbfeste Masse, die unmittelbar mit reinem Wasser wiederholt ausgeknetet wurde. Zuletzt verwandelte sie sich dann in ein weißes, hartes, in Wasser unlösliches Kristallpulver. Dieses wurde in absolutem Alkohol gelöst und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Der Überschuß an $H_2S$ und die größte Menge des Alkohols wurden im Vakuum abdestilliert (30°), der Rückstand mit absolutem Äther gefällt und getrocknet. Die Säure bildete ein weißes, hygroskopisches Kristallpulver.

*Histonchlorid.* Darstellung des sauren Salzes s. S. 505.

Um ein neutrales, kochsalzfreies Chlorid zu bekommen, wurden 3 g HiCl . HCl in 300 ccm Wasser gelöst, mit 2,71 ccm n NaOH (bis zu einem $p_H = 6,8$) versetzt und die Lösung gegen fließendes Wasser bei 0° unter Druck dialysiert. Nach einer Woche wurde die Innenflüssigkeit an Stickstoff und Chlor analysiert. Der Stickstoffgehalt war (Mittel aus drei Analysen) 0,115 mg-Atome N pro Kubikzentimeter, der Chlorgehalt (Mittel aus zwei Analysen) 0,0072 mg-Atome Cl pro Kubikzentimeter.

Die oben zugesetzte NaOH-Menge entsprach 52,6 Proz. der ganzen Chlormenge, und wenn diese in der Form von NaCl ausdiffundierte und keine Hydrolyse vorkam, sollte das Dialysat 0,0082 mg-Atome Cl pro Kubikzentimeter enthalten. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß nicht nur alles Natrium als NaCl ausdiffundiert war, sondern daß auch durch Hydrolyse Chlor von HiCl (zu etwa 12 Proz.) weggenommen war. Da man doch nichts Bestimmtes über die Zusammensetzung eines neutralen Histonchlorids kennt, wurde das Dialysat nach geeigneter Verdünnung zu den Druckmessungen direkt verwendet.

*Protaminchlorid.* Als Ausgangsmaterial wurde Heringssperma verwendet, das direkt am Fangorte innerhalb ein paar Stunden nach *Kossel* (19) bearbeitet wurde. Aus dem nach Fettextraktion gewonnenen,

beinahe weißen Pulver wurde Protaminsulfat mit Schwefelsäure extrahiert, in Pikrat übergeführt und das wieder bereitete Sulfat dreimal aus Wasser als Öl gefällt. Nach nochmaliger Pikratüberführung wurde (nach Alkoholfällung) ein festes, rein weißes Sulfat erhalten. Aus diesem wurde das Chlorid in analoger Weise über nochmals ausgefälltes Pikrat mit Äther und verdünnter Salzsäure dargestellt, wobei mit sehr konzentrierten Lösungen gearbeitet wurde, da das Chlorid in Wasser und Alkohol sehr leicht löslich ist. Durch Zusatz von der zehnfachen Menge Alkohol und derselben Menge Äther konnte das Protaminchlorid als flockiger, weißer Niederschlag gefällt werden. Nach Zentrifugierung und Trocknen im Vakuum wurde ein weißes, hygroskopisches Pulver erhalten, das folgenden N- und Cl-Gehalt zeigte:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,0428 g | verbrauchten | 5,11 ccm | n/10 HCl | = 16,73 Proz. | N |
| 0,0357 g | „ | 4,29 „ | n/10 „ | = 16,84 „ | N |
| 0,0501 g | „ | 6,01 „ | n/10 „ | = 16,81 „ | N |
| | | | Mittelwert | = 16,79 Proz. | N |
| 0,0721 g | verbrauchten | 2,70 ccm | n/10 AgNO | = 13,28 Proz. | Cl |
| 0,0687 g | „ | 2,53 „ | n/10 „ | = 13,06 „ | „ |
| 0,0653 g | „ | 2,41 „ | n/10 „ | = 13,09 „ | „ |
| | | | Mittelwert | = 13,14 Proz. | Cl |

Das Verhältnis N : Cl ist gleich 1,28. Für 10 N : 3 Cl berechnet sich 1,32. Dieses Chlorid reagierte gegen Lackmus neutral.

*Amine.* Von der Taurocholsäure, die in Wasser leicht löslich, also für die bequemere indirekte Druckmessung (Gefrierpunkt) sehr geeignet ist, habe ich auch Salze mit Tetramethylammoniumhydrat und Triisoamylamin untersucht. Die Salze wurden durch Mischung von berechneten Mengen der freien Säure mit der Base in Wasserlösung dargestellt.

Tetramethylammoniumjodid wurde in bekannter Weise aus Trimethylamin (*Kahlbaum*), Methyljodid und Methylalkohol gewonnen. Das Jodid wurde in einem mit Natronkalkröhrchen und Heber versehenen Kolben in $CO_2$-freiem Wasser gelöst und mit einem Überschuß von $Ag_2O$ geschüttelt. Ohne Filtrieren wurde die Tetramethylammoniumhydratlösung dann verwendet, wobei der Gehalt durch Titration mit n/10 HCl ermittelt wurde.

Triisoamylamin (von *Kahlbaum*) wurde unmittelbar vor der Verwendung im Vakuum destilliert, wobei eine konstant siedende Fraktion aufgenommen wurde (Siedepunkt 117° bei 15 mm). Das aus 1 Mol $(C_5H_{11})_3N$ und 1 Mol Taurocholsäure dargestellte Salz reagierte neutral gegen Lackmus.

Nach den auf S. 513 angeführten Gründen konnte man sich denken, daß die Molekulargröße, Gewicht oder Volumen, für die große Abnormität des Druckes gewisser hochmolarer Elektrolyte verantwortlich



sei. Um herauszufinden, welche von diesen Größen die entscheidende Bedeutung hat, könnte man den Druck einer Substanz untersuchen, deren Molekulargewicht in dem Gebiete der druckabweichenden Stoffe liegt, die aber wesentlich größere Dichte hat. Eine solche Substanz ist die Metawolframsäure, $H_2W_4O_{13} = 946$, die also ein viel größeres Molekulargewicht hat als die beiden Gallensäuren, die osmotisch abnorm sind (s. unten). Wie alle Wolframverbindungen, hat die Metawolframsäure eine sehr große Dichte, vielmal größer als die der Nucleinsäuren und anderer organischer Verbindungen.

Für die Metawolframsäure haben *Sobolew* (20), *Rosenheim* und *Kohn* (21) und *Copaux* (22) die Gefrierpunktserniedrigung in Wasserlösung gemessen. Tabelle XVIII zeigt einige von ihren Resultaten.

*Tabelle XVIII.*

Gefrierpunktserniedrigung und Leitvermögen der Metawolframsäure. Nach *Sobolew*, *Rosenheim* und *Kohn* und *Copaux*.

| g $H_2W_4O_{13}$ in 100 g Wasser | Gefrierpunktserniedrigung | *van 't Hoffs* Faktor *i* |
|---|---|---|
| 0,3489 | 0,018 | 2,53 |
| 0,6992 | 0,034 | 2,32 |
| 1,410 | 0,062 | 2,15 |
| 2,872 | 0,117 | 1,99 |
| 5,1 | 0,19 | 1,90 |
| 5,915 | 0,228 | 1,89 |
| 8,563 | 0,321 | 1,92 |
| 10,2 | 0,36 | 1,80 |
| 12,58 | 0,465 | 1,80 |
| 16,16 | 0,615 | 1,75 |
| 20,4 | 0,65 | 1,63 |
| 25,94 | 0,879 | 1,66 |
| 30,6 | 0,96 | 1,60 |

| Liter Lösung, worin 1 g-Mol. $H_2W_4O_{13}$ — V | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | 1024 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Molares Leitvermögen (25°) | 170,4 | 233,5 | 279,1 | 325,2 | 371,6 | 416,7 |

Eine Lösung von 1,41 g der Metawolframsäure in 100 g Wasser (1 g-Äquivalent $H_2W_4O_{13}$ auf etwa 34 Liter Lösung) zeigt also eine Gefrierpunktserniedrigung, aus welcher $i_{osm.} = 2,15$ sich berechnen läßt. Würde man voraussetzen, daß $i_{osm.} = i_{el.} = 1 + 2\alpha$ ist, wird also in diesem Falle $\alpha = 0,58$.

Da die Metawolframsäure also trotz ihres großen Molekulargewichtes einen osmotischen Druck besitzt, aus dem man sehr starke Dissoziation berechnen kann, lag es am nächsten zu untersuchen, ob das Molarvolumen in Zusammenhang mit den erwähnten Abnormitäten gebracht werden konnte.

Mit Molarvolumen wird im folgenden das Volumen von 1 g Mol der Substanz in verdünnter Lösung verstanden.

Ist das spezifische Gewicht einer Lösung von $c$ g-Mol. zu 1000 ccm Lösung $s_L$, das spezifische Gewicht des Wassers bei derselben Temperatur $s_V$ und $M$ das Molekulargewicht, so wird das (relative) Molarvolumen

$$V = \frac{c \cdot M - (s_L - s_V) \cdot 1000}{s_V \cdot c}.$$

Tabelle XIX gibt eine Zusammenstellung über die mit Pyknometer gemessenen spezifischen Gewichte ($s_L$) und die berechneten $V$-Werte bei einigen der untersuchten Substanzen.

*Tabelle XIX.*

Relative Molarvolumina einiger „Kolloidelektrolyte". 20°.

| Substanz, Molekulargewicht | Molare Konzentration $c \cdot 10^3$ | Spez. Gew.-Differenz $(s_L - s_V) \cdot 10^3$ | Relatives Molekularvolumen $V$ | Mittelwerte von $V$ | Mittelwerte von Spez. Gew. d. Substanz in verd. Lösung |
|---|---|---|---|---|---|
| Guanylsäure, $C_{10}H_{14}O_8N_5P = 363{,}2$ | 15,07<br>13,60 | 2,51<br>2,25 | 196<br>198 | 197 | 1,84 |
| di-Natriumguanylat, $C_{10}H_{12}O_8N_5PNa_2 = 407{,}2$ | 49,9<br>25,0<br>15,0<br>10,0 | 11,98<br>5,92<br>3,62<br>2,40 | 167<br>171<br>166<br>167 | 167 | 2,44 |
| Natriumglykocholat, $C_{26}H_{42}NO_6Na = 487{,}5$ | 26,0<br>13,0 | 3,18<br>1,60 | 365<br>364 | 365 | 1,33 |
| Taurocholsäure, $C_{26}H_{45}NSO_7 = 515{,}6$ | 82,8<br>41,4 | 11,01<br>5,42 | 382<br>384 | 383 | 1,34 |
| Natriumtaurocholat, $C_{26}H_{44}NSO_7Na = 537{,}6$ | 45,6<br>22,9<br>13,8 | 6,81<br>3,44<br>2,07 | 388<br>387<br>387 | 387 | 1,39 |
| Protaminchlorid, $n(R_1N_{10}Cl_3)$ ? Mol.-Gew. 813 angenommen | 51,2<br>25,7<br>16,0 | 11,70<br>5,84<br>3,62 | 585<br>586<br>587 | 586 | 1,39 |
| Histonchlorid, $n(R_2N_{13}Cl)$ ? Mol.-Gew. 1100 angenommen | 17,6<br>8,8<br>4,4 | 5,07<br>2,47<br>1,26 | 812<br>818<br>815 | 815 | 1,35 |
| Thymonucleinsäure nach *E. Hammarsten*, Mol.-Gew. = 1423 | — | — | — | 837 | 1,70 |
| ThymonucleinsauresNa$_4$ nach *E. Hammarsten*, Mol.-Gew. = 1545 | — | — | — | 817 | 1,89 |

Die Druckmessung wurde bei den Gallensäuren und ihren Salzen mit der Steighöhenmethode unter Verwendung von hydrostatischem Anfangsdruck ausgeführt. Als Membran diente „Hülse IV" (siehe Guanylsäure). Der Druck blieb mehrere Stunden vollkommen konstant.

Bei diesen Versuchen kam keine Hydrolyse vor (s. unten), weshalb eine sehr einfache und vollkommen genaue Methode zur Bestimmung der Konzentrationen innen und außen verwendet werden konnte. Die Lichtbrechung einer Serie von Lösungen in dem betreffenden Konzentrationsgebiete wurde für jede Substanz mittels eines Flüssigkeitsinterferometers (*Zeiss*) gemessen. Sie war für die meisten Substanzen eine liniare Funktion der Konzentration. Durch Untersuchung der unbekannten Lösung in derselben Schichtdicke konnte ihre Konzentration aus der Kurve interpoliert werden. Die Genauigkeit war etwa $\pm$ 0,5 Proz. Die Interferometerzahlen sind in dieser Arbeit nicht angegeben. Die Dissoziationskonstante der Glykocholsäure wurde wie bei der Guanylsäure bestimmt, so auch alle Leitfähigkeitsmessungen. Der Druck von Protamin- und Histonchlorid wurde mit der *Sörensen*schen Kompensationsmethode gemessen. Die Methode wurde genau befolgt und die Ablesung der Meniskenlagen konnte auf $\pm$ 0,01 mm gemacht werden (Kathetometermikroskop). Eine kaum meßbare Stickstoffmenge diffundierte in einigen Versuchen aus. Die Konzentration an Chlorionen wurde elektrometrisch gemessen. Die Potentiale stellten sich sehr rasch und vollkommen konstant ein, und die Abweichungen vom Mittelwert waren, wie Parallelversuche zeigten, nie größer als $\pm$ 5 Proz., oft kleiner.

Die Berechnungen des Druckes sind sowohl nach der klassischen Theorie, wie nach der neueren unter Verwendung von *Debye-Hückels* (26) Formeln ausgeführt. Wenn auch diese neuere Theorie, sofern es starke, anorganische Elektrolyte gilt, sich an die Erfahrung viel besser als die klassische anschmiegt, schien es mir doch angemessen, die Berechnung der Abweichungen des Druckes hauptsächlich auf die klassische Theorie zu gründen. Erstens zeigte sich nämlich bald, daß beide Theorien ungenügend waren, um die kleinen Drucke der untersuchten Substanzen zu erklären, weshalb beide Theorien für die Berechnung der Abweichungen ziemlich gleichgestellt waren. Zweitens ist die neuere Theorie doch gar nicht endgültig ausgeführt, und besonders nicht für hochmolare Elektrolyte, auch nicht für Elektrolyte, bei denen man sich die Befindlichkeit eines Dissoziationsgleichgewichtes vorstellen muß.

Im folgenden bedeutet für eine $1 \times n$-wertige Substanz:

$P_0$ der nach *van 't Hoff* für den undissoziierten Zustand berechnete Druck.

$P_{\text{ber.}}$ der nach *Arrhenius* für Elektrolyte berechnete Druck, also $P_{\text{ber.}} = P_0 (1 + n\alpha)$.

$P_k$ der für vollständige Dissoziation berechnete Druck, also $P_k = P_0 (1 + n)$.

$P_{\text{gef.}}$ der experimentell gefundene Druck.

Bei Gefrierpunktsbestimmungen ist $P$ gegen $\Delta$ (Gefrierpunktserniedrigung) zu ersetzen.

$A$ ist die prozentische Abweichung $A = 100 \cdot \frac{P_{\text{ber.}} - P_{\text{gef.}}}{P_{\text{ber.}}}$.

$F$ ist bestimmt durch die Gleichung $F = \frac{1 + n\alpha}{n\alpha} \cdot A$. (Über die Bedeutung von $F$ s. weiter S. 532).

$\Theta$ (gefunden) ist die Abweichung $\Theta = \frac{P_k - P_{\text{gef.}}}{P_k}$.

$\Theta$ (berechnet) ist nach *Debye-Hückel* berechnet. Mit den von mir benutzten Bezeichnungen geben *Debye-Hückels* Formeln:

$$100\,\Theta = 27{,}0 \sqrt{n^3(n+1)}\,\sqrt{c} \cdot \frac{\sigma_n + n\sigma_1}{1+n},$$

was auch für ziemlich starke Lösungen eines $1 \times n$-wertigen Elektrolytes gelten soll. $c$ ist hier die molare Konzentration, $\sigma_n$ (und $\sigma_1$) eine Funktion von den drei Variablen Konzentration $c$, Ionenvalenz $n$ (bzw. 1) und Ionendimensionen $a_n$ (bzw. $a_1$), die durch die Gleichung:

$$\sigma_n = \frac{3}{(\varkappa a_n)^3}\left[(1 + \varkappa a_n) - \frac{1}{(1 + \varkappa a_n)} - 2\,{}^e\log(1 + \varkappa a_n)\right]$$

bestimmt ist. In diesem Ausdruck bedeutet wieder $\varkappa$ eine Funktion aus $n$ und $c$ nach der Gleichung:

$$\varkappa = 0{,}231 \,.\, 10^8 \,.\, \sqrt{n(n+1)} \,.\, \sqrt{c}.$$

Eine große Schwierigkeit bei den Berechnungen nach dieser Formel liegt darin, daß man die Dimensionen der von mir untersuchten voluminösen Ionen nicht sicher kennt. Eine exakte Bestimmung von $\Theta$ wurde deshalb unmöglich. In den folgenden Tabellen ist $\Theta$ für $a_n = a_1 = 0$, 3, 3,5, 10 oder 50 . $10^{-8}$ cm berechnet, wobei also mit einer gemeinsamen mittleren Größe für beide Ionen gerechnet wurde. Der Bruch $\frac{\sigma_n + n\sigma_1}{1+n}$ wurde demnach auf $\sigma(\varkappa a)$ vereinfacht. Hierüber sagen

Abb. 12. ($n = 1$.)

*Debye* und *Hückel* für die Berechnungen an anorganischen Salzen: „Es schien uns nun angezeigt, bei der heutigen Sachlage nicht auf die einzelnen Ionengrößen einzugehen, sondern mit einem mittleren, für die Ionen eines Elektrolyten gleichen Durchmesser $a$ zu rechnen". $a = 3{,}5 \,.\, 10^{-8}$ cm entspricht etwa der Größe der Ionen $K^{\cdot}$, $Na^{\cdot}$, $Cl'$ usw. — Damit die ziemlich komplizierte Funktion $\Theta$ in ihrer Abhängigkeit





von $c$, $n$ und $a$ leichter zu überblicken werde, habe ich die Abb. 12 bis 17 gezeichnet. Die Abb. 12 gibt den Zusammenhang zwischen $\Theta$ und $\sqrt{c}$ bei vier verschiedenen $a$-Werten für 1 . 1-wertige Elektro-

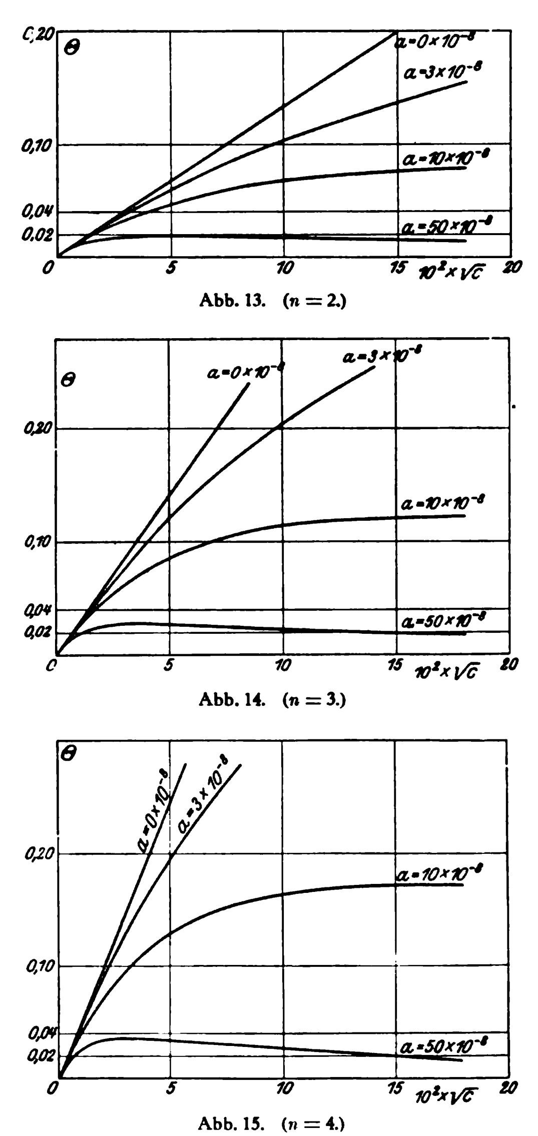



Abb. 13. ($n = 2$.)

Abb. 14. ($n = 3$.)

Abb. 15. ($n = 4$.)

lyte, die Abb. 13 bis 15 dasselbe für 1 . 2-, 1 . 3- bzw. 1 . 4-wertige Elektrolyte. Die Abb. 16 und 17 beziehen sich auf die molare Konzentration $c = 2{,}5 \cdot 10^{-3}$, also in dem von mir meist verwendeten

Konzentrationsgebiet. Die Abb. 16 zeigt dann den Zusammenhang zwischen $\Theta$ und $a$ bei verschiedenen $n$-Werten; die Abb. 17 zeigt wieder, wie $\Theta$ bei verschiedenen $a$-Werten auf der Valenz ($n$) beruht. $\Theta$ wächst im allgemeinen mit der Konzentration. Nur bei sehr voluminösen und polyvalenten Ionen kann sie in dem betreffenden Konzentrationsgebiet ein Maximum zeigen, um wieder langsam herabzusinken. $\Theta$ nimmt

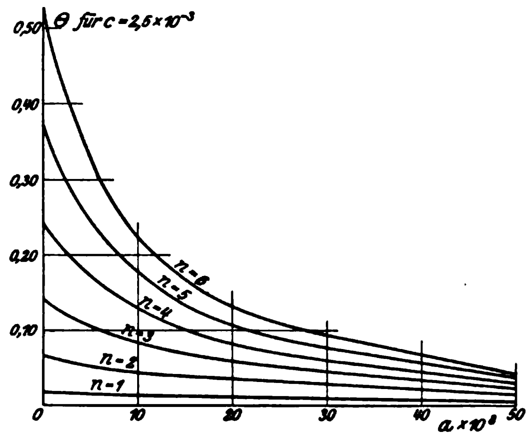



Abb. 16. ($c = 2{,}5 \times 10^{-3}$.)

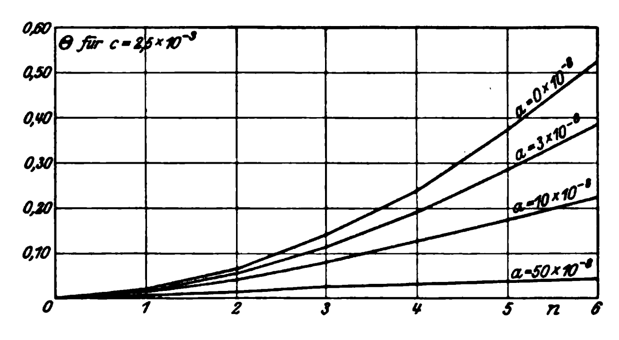



Abb. 17. ($c = 2{,}5 \times 10^{-3}$.)

weiter mit der Valenz sehr rasch zu, doch ist diese Zunahme von den Ionendimensionen stark beeinflußt, so daß schon bei $a = 10 \,.\, 10^{-8}$ cm die Zunahme mit $n$ nur etwa proportional ist (s. besonders Abb. 17). Je größer die Ionen werden, je kleinere $\Theta$-Werte sollte man bei übrigens gleichen Bedingungen erhalten, indem die potentielle Energie der größeren Ionen bei gleichen Ladungen natürlich kleiner als die der kleineren Ionen ist. Dies ist bei den von mir untersuchten, sehr großen Ionen zu beobachten.

*Tabelle XX.*

Osmotischer Druck von $H_3G$ und $Na_2HG$ aus Tabellen VI, VIII, X.

| Substanz | Molare Konzentrationsdifferenz (I. n. — A. n.) . $10^3$ | $A$ | $F$ | 100 Θ gefunden | 100 Θ berechnet für $a = 3{,}5 . 10^{-8}$ | 100 Θ berechnet für $a = 10 . 10^{-8}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $H_3G$ | 15,07 | — 2,5 *) | — 8,5 | 27 | 3,8 | 2,8 |
| | 7,53 | + 5,0 *) | + 15 | 29 | 2,9 | 2,3 |
| $Na_2HG$ | 25 | — 5,5 *) | — 9,9 | 22 | 13,8 | 7,8 |
| | 13 | — 1,7 *) | — 4,6 | 18 | 11,1 | 7,0 |
| | 2,50 | + 0,2 | + 0,3 | 12,9 | 5,6 | 4,6 |
| | 2,45 | — 1,3 | — 2,1 | — | — | — |
| | 2,56 | + 1,0 | + 1,6 | — | — | — |
| | 1,20 | — 0,4 | — 0,6 | 9,6 | 4,1 | 3,5 |
| | 0,59 | — 1,0 | — 1,6 | 6,2 | 3,0 | 2,6 |

*) Aus Gefrierpunktsbestimmung.

Tabelle XX gibt eine Zusammenfassung der Abweichungen $A$, $F$ und 100 Θ für Guanylsäure und ihr Natriumsalz. 100 Θ wurde für die freie Säure als 1 . 1-wertig, für das Natriumsalz als 1 . 2-wertig berechnet, und die Rechnung wurde unter Annahme von $a = 3{,}5$ bzw. $10 . 10^{-8}$ cm ausgeführt. Der letztere Wert entspricht Ionen, die etwa 20- bis 25mal größer sind als die Ionen K˙, Na˙, Cl′ (s. oben). Bei sämtlichen von mir untersuchten hochmolaren Elektrolyten dürfte man wohl deshalb mit Wahrscheinlichkeit behaupten, daß $a$ größer als $10 . 10^{-8}$ cm ist. 100 Θ wurde durchgehend höher gefunden als die Theorie fordert. Dies zeigt deutlich, daß sowohl Guanylsäure als auch das Natriumsalz bei den untersuchten Konzentrationen nicht vollkommen dissoziiert waren. Die ältere Berechnungsweise ist wohl deshalb hier berechtigt und zeigt, daß die Substanzen osmotisch normal sind, indem $A$, also auch $F$, innerhalb der Versuchsfehler der Meßmethode gleich 0 waren.

Tabelle XXI gibt eine Zusammenstellung der Druckmessungen von *E. Hammarsten* über Thymonucleinsäure. Trotzdem diese Säure vierwertig ist, sollte man nach *Debye-Hückel* bei den von *E. Hammarsten* untersuchten Konzentrationen für das Natriumsalz nur 100 Θ = 6,4 — 16 (für $a = 10 . 10^{-8}$ cm) erwarten, während der gefundene Wert 100 Θ = 84 weit darüber geht.

*Tabelle XXI.*

Osmotischer Druck von Thymonucleinsäure und dem Natriumsalz nach *E. Hammarsten.*

| Substanz | $P_{gef.}/P_0$ | $F$ |
|---|---|---|
| Thymonucleinsäure . . | 0,70 { Mittel aus 3 Best. | 100 { 30 Proz. Aggregation angenommen |
| Thymonucleinsaures $Na_4$ | 0,78 { Mittel aus 14 Best. | 100 { 22 Proz. Aggregation angenommen |

Tabelle XXII zeigt die Resultate meiner Messungen über das Dissoziationsgleichgewicht von Glykocholsäure, nach der klassischen Theorie berechnet.

*Tabelle XXII.*

Dissoziationskonstante der Glykocholsäure.

| Molare Konzentration der Säure $c_1 \cdot 10^4$ | Konzentration an NaOH $c_2 \cdot 10^4$ | $[H^{\cdot}] \cdot 10^4$ | $k \cdot 10^5$ |
|---|---|---|---|
| 7,35 | 0,00 | 1,49 | 3,8 |
| 7,35 | 1,80 | 0,823 | 4,6 |
| 7,35 | 3,60 | 0,328 | 3,8 |
| 7,35 | 5,39 | 0,132 | 4,0 |
| 7,35 | 7,18 | 0,0084 | 3,7 |

Mittelwert $k = (4,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$

Die Säure ist ziemlich schwach, indem die Dissoziationskonstante nur etwa doppelt so groß wie die der Essigsäure ist.

In Tabelle XXIII wurde durch Leitfähigkeitsmessungen die Dissoziation des Natriumsalzes der Glykocholsäure bestimmt.

*Tabelle XXIII.*

Dissoziationsgleichgewicht des Natriumglykocholats.

| Volumen von 1-g-Äquivalent $V$ Liter | Konzentration $c \cdot 10^3$ | Spezifisches Leitvermögen $\varkappa \cdot 10^4$ | Äquivalentes Leitvermögen $\Lambda_v$ | $\alpha_v$ |
|---|---|---|---|---|
| 198 | 5,05 | 5,378 | 106,5 | 0,89 |
| 256 | 3,91 | 4,245 | 108,7 | 0,91 |
| 512 | 1,95 | 2,199 | 112,6 | 0,95 |
| 1024 | 0,976 | 1,123 | 115,1 | 0,97 |
| 2048 | 0,488 | 0,569 | 116,5 | 0,98 |
| 4096 | 0,244 | 0,287 | 117,6 | 0,99 |
| 8192 | 0,122 | 0,144 | 118,0 | 0,99 |
| ∞ | 0,000 | 0,000 | 119,0 | 1,00 |

$\Lambda_{1024} - \Lambda_{32} = 6,4$

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Differenz $\Lambda_{1024} - \Lambda_{256} = 6,4$ gefunden wurde. Nach *Ostwald-Waldens* Regeln soll diese Differenz für 1 . 1-wertige Salze den Wert 2,9 haben. Die Leitfähigkeit stimmt also nicht mit dieser Regel. Die Dissoziation ist sehr weitgehend in dem untersuchten Konzentrationsgebiet.

Man konnte sich vorstellen, daß das Natriumsalz einer so schwachen Säure, wie die Glykocholsäure, durch Hydrolyse während der Dialyse zersetzt werden sollte, was eine Senkung des osmotischen Druckes verursachen würde. Einige Messungen der Wasserstoffionenkonzentration vor und nach Dialyse sind in Tabelle XXIV angeführt und zeigen, wieweit dieses der Fall war.

*Tabelle XXIV.*

Membranhydrolyse von Natriumglykocholat.

| $c_1' (= c_2') \cdot 10^3$ | $[H^\cdot] \cdot 10^9$ vor Dialyse | $[H^\cdot] \cdot 10^9$ nach Dialyse (6 Stunden) | $c_2'' \cdot 10^3$ (aus $[H^\cdot]$ berechnet) | $c_1'' \cdot 10^3$ (aus N-Bestimmung) | Proz. ausdiffundiertes NaOH |
|---|---|---|---|---|---|
| 3,54 | 9,45 | 1,12 | 3,120 | 3,13 | 0,3 |
| 2,88 | 10,23 | 2,05 | 2,395 | 2,40 | 0,2 |
| 1,44 | 10,08 | 0,88 | 1,257 | 1,27 | 1,0 |

$c_1'$ und $c_1''$ bezeichnen die Konzentrationen an Glykocholsäure vor bzw. nach Dialyse, $c_2'$ und $c_2''$ die Konzentration an NaOH vor bzw. nach Dialyse. Mit den gewöhnlichen Bezeichnungen gilt:

$$c_2 = \frac{k c_1}{[H^\cdot] + k} + \frac{k_w}{[H^\cdot]} - [H^\cdot].$$

Da $[H^\cdot]$ auch nach Dialyse nie so nahe an $k$ kam, daß es als Addend gegen $k$ von Bedeutung wurde, und da $[H^\cdot]$ auch weit von $c_1$ lag, konnte die Gleichung auf $c_2 - c_1 = \frac{k_w}{[H^\cdot]}$ vereinfacht werden, oder da $c_1' = c_2'$, $c_2'' - c_1'' = k_w \left(\frac{1}{[H^\cdot]''} - \frac{1}{[H^\cdot]'}\right)$, wonach $c_2''$ in Tabelle XXIV berechnet wurde. Die Hydrolyse war, wie man sieht, von sehr unbedeutender Einwirkung auf die Konzentration $c_2$. Sie wurde bei den Druckbestimmungen nicht mit in Rechnung genommen, da sie kaum über die Versuchsfehler auf das Resultat einwirken konnte.

Tabelle XXV zeigt den osmotischen Druck von Natriumglykocholat.

*Tabelle XXV.*

Osmotischer Druck von Natriumglykocholat.

| Mol. Konzentration . $10^3$ in Gleichgewicht | | $\alpha$ | Osmotischer Druck cm Wasser | | $A = \frac{P_{ber.} - P_{gef.}}{P_{ber.}} \cdot 100$ | $F$ | $100\ \vartheta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | gef. | berechnet für | |
| innen | außen | | $P_{ber.}$ | $P_{gef.}$ | | | | $a = 0 \cdot 10^{-8}$ | $a = 10 \cdot 10^{-8}$ |
| 3,13 | 0,03 | 0,92 | 146,8 | 124,0 | 15,5 | 32,3 | 19,0 | 2,2 | 1,7 |
| 2,40 | 0,12 | 0,94 | 109,0 | 92,8 | 14,9 | 30,8 | 17,5 | 1,8 | 1,5 |
| 1,27 | 0,06 | 0,96 | 58,5 | 49,5 | 15,4 | 31,4 | 17,1 | 1,3 | 1,2 |

Mittelwert $F$ = 31,5 Proz.

Eine deutlich merkbare Abweichung vom berechneten Druck wurde beobachtet sowohl bei Berechnung nach der klassischen wie nach der neuen Theorie. Die Abweichung war aber kleiner als bei vielen bisher untersuchten Kolloidelektrolyten, im Mittel wurde bei den verwendeten Konzentrationen $A$ = 15,2 Proz. erhalten. Auf Versuchsfehler kann die Abnormität *nicht* zurückgeführt werden, ebensowenig auf Aggregation, denn aus dem Dissoziationsgrade $\alpha$ = 0,92 bis 0,96

folgt, daß diese höchstens 8 bis 4 Proz. betragen konnte, und die Abnormität war viel größer.

*Tabelle XXVI.*

Osmotischer Druck der Taurocholsäure.

| Mol. Konzentration . $10^3$ in Gleichgewicht | | $[H^{\cdot}] . 10^3$ in Gleichgewicht | Osmotischer Druck cm Wasser | | $A$ | $F$ | 100 $\vartheta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | gefunden | berechnet für | |
| innen | außen | innen | ber. | gef. | | | | $a = 0$ | $a = 10 . 10^{-8}$ |
| 3,41 | 0,065 | 2,48 | 142,1 | 106,2 | 25,3 | 60,1 | 35,6 | 2,2 | 1,8 |
| 2,53 | 0,03 | 1,95 | 109,0 | 83,2 | 23,7 | 54,4 | 32,6 | 1,9 | 1,5 |
| 1,81 | 0,02 | 1,47 | 79,9 | 60,5 | 24,3 | 54,2 | 31,3 | 1,6 | 1,4 |

Mittelwert $F$ = 56,2 Proz.

*Tabelle XXVII.*

Gefrierpunktserniedrigung für Taurocholsäure.

| Molare Konzentration $c . 10^3$ | $[H^{\cdot}] . 10^3$ | Gefrierpunktserniedrigung | | $A$ | $F$ | 100 $\vartheta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | gefunden | berechnet für | |
| | | berechnet | gefunden | | | | $a = 0$ | $a = 10 . 10^{-8}$ |
| 87,4 | 51,0 | 0,257 | 0,207 | 19 | 52 | 35,9 | 11,3 | 3,9 |
| 47,4 | 28,7 | 0,142 | 0,112 | 21 | 56 | 36,0 | 8,3 | 3,6 |

Mittelwert $F$ = 54,0 Proz.

Die Wasserstoffionenkonzentration wurde elektrometrisch gemessen. Die Taurocholsäure ist, wie die C- und $[H^{\cdot}]$-Werte angeben, eine starke Säure; in n/10 Lösung ist der Dissoziationsgrad etwa 0,55. In Übereinstimmung mit den anorganischen, starken Säuren scheint die Taurocholsäure dem Massenwirkungsgesetz nicht zu folgen, indem *Ostwalds* Verdünnungsgesetz $k = \frac{[H^{\cdot}]^2}{C - [H^{\cdot}]}$ keine konstanten $k$-Werte gibt.

Es war überhaupt sehr unerwartet zu finden, daß Taurocholsäure so viel stärker als Glykocholsäure ist. Dieses muß vielleicht auf verschiedene Anlagerung von Glykochol bzw. Taurin zurückgeführt werden. Da Taurin selbst als Ampholyt nur sehr schwach sauer reagiert, ist es sehr wahrscheinlich, daß ihre $SO_3H$-Gruppe in der Taurocholsäure frei und von $NH_2$ ungeschwächt vorkommt. Die Sache ist von Interesse, nicht zum wenigsten, weil Taurocholsäure biologische Bedeutung hat, konnte aber gegenwärtig aus Materialmangel nicht weiter verfolgt werden.

Es war aus diesem selbstverständlich, daß man bei dem Na-Salze der Taurocholsäure mit keiner Hydrolyse zu rechnen hat. Sowohl bei direkter wie bei indirekter Druckmessung wurden viel kleinere Drucke erhalten, als die aus C und $[H^{\cdot}]$ oder nach *Debye-Hückel* be-

rechneten. Die Abweichung ($A$) war, sowohl osmotisch wie indirekt gemessen, dieselbe, 20 bis 25 Proz.

*Tabelle XXVIII.*

Dissoziationsgleichgewicht des Natriumtaurocholats.

| Molare Konzentration $c \cdot 10^3$ | $V = 1/c$ | $\Lambda_v$ | $\alpha_v$ | Molare Konzentration $c \cdot 10^3$ | $V = 1/c$ | $\Lambda_v$ | $\alpha_v$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 96,5 | 10,4 | 48,7 | 0,77 | 1,95 | 512 | 61,7 | 0,97 |
| 31,3 | 32 | 54,4 | 0,86 | 0,976 | 1024 | 62,5 | 0,99 |
| 15,6 | 64 | 57,0 | 0,90 | 0,488 | 2048 | 62,9 | 0,99 |
| 7,8 | 128 | 58,5 | 0,92 | 0,244 | 4096 | 63,1 | 1,00 |
| 3,9 | 256 | 60,6 | 0,96 | 0,000 | $\infty$ | 63,3 | 1,00 |

$\Lambda_{1024} - \Lambda_{32} = 8{,}1$. Die Dissoziation folgt *Ostwald-Waldens* Regel besser als für die Glykocholsäure.

*Tabelle XXIX.*

Osmotischer Druck von Natriumtaurocholat.

| Mol. Konzentration . $10^3$ in Gleichgewicht | | $\alpha$ | Osmotischer Druck cm Wasser | | $A$ | $F$ | 100 $\theta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | gefunden | berechnet für | |
| innen | außen | | berechnet | gefunden | | | | $a = 0$ | $a = 10 \cdot 10^{-6}$ |
| 3,37 | 0,05 | 0,96 | 160,5 | 116,2 | 27,6 | 56,3 | 29,1 | 2,2 | 1,8 |
| 2,86 | 0,03 | 0,97 | 137,4 | 102,2 | 25,6 | 52,0 | 26,8 | 2,0 | 1,6 |
| 1,74 | 0,01 | 0,98 | 84,4 | 59,5 | 29,5 | 59,6 | 30,3 | 1,6 | 1,3 |

Mittelwert $F = 56{,}0$ Proz.

*Tabelle XXX.*

Gefrierpunktserniedrigung für Natriumtaurocholat.

| Molare Konzentration . $10^3$ | $\alpha$ | Gefrierpunktserniedrigung | | $A$ | $F$ | 100 $\theta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | gefunden | berechnet für | |
| | | berechnet | gefunden | | | | $a = 0$ | $a = 10 \cdot 10^{-6}$ |
| 96,5 | 0,77 | 0,316 | 0,236 | 25,3 | 58 | 33,9 | 11,8 | 3,9 |
| 48,3 | 0,83 | 0,164 | 0,124 | 24,4 | 54 | 30,6 | 8,4 | 3,6 |

Mittelwert $F = 56{,}0$ Proz.

Auch beim Natriumsalze der Taurocholsäure wurde eine Abnormität des Druckes wahrgenommen. Diese war ungefähr ebenso groß ($A = 25$ bis 30 Proz., sowohl bei direkten Druckmessungen als bei Gefrierpunktsbestimmungen) wie bei der freien Säure, möglicherweise ein wenig größer und konnte, wie beim Natriumglykocholat, nicht auf Aggregation zurückgeführt werden, indem $\alpha = 0{,}96$ bis $0{,}98$ gefunden wurde.

Die Abnormität $A$ des Druckes bei Glykochol- und Taurocholsäure, sowie bei ihren Natriumsalzen ist ziemlich klein. Vergleicht man sie noch mit dem Drucke der Guanylsäure, so geht daraus hervor, daß bei immer größeren Anionen eine steigende Abnormität auftritt, ganz gegen die Wirkung der Ionenpotentiale. Das Guanylation ist noch „klein genug", um normale Drucke zu geben, aber schon beim Glykocholation ist die Grenze überschritten.

*Tabelle XXXI.*

Dissoziationsgleichgewicht des Histonchlorids.

| Grammatome Cl . $10^3$ auf 1 Liter | [Cl'] . $10^3$ | Dissoziationsgrad $\alpha = \frac{[Cl']}{[Cl]}$ |
|---|---|---|
| 7,20 | 5,20 | 0,72 |
| 3,60 | 2,80 | 0,78 |
| 1,44 | 1,18 | 0,82 |
| 0,72 | 0,65 | 0,90 |

Der Dissoziationsgrad $\alpha$ wurde als das Verhältnis zwischen Chlorionenkonzentration (elektrometrisch gemessen) und totaler Chlorkonzentration (maßanalytisch an der Stammlösung gemessen) erhalten.

*Tabelle XXXII a.*

Osmotischer Druck des Histonchlorids.

| g-Atome N . $10^3$/Ltr. in Gleichgewicht innen | [Cl'] . $10^3$ in Gleichgewicht: innen $[Cl_i']$ | [Cl'] . $10^3$ in Gleichgewicht: außen $[Cl_a']$ | Dissoziationsgrad $\alpha$ innen in Gleichgewicht, aus Tab. XXXI graph. extrapoliert | Osmotischer Druck cm Wasser: ber. für nur die Konz. $[Cl_i'] - 2[Cl_a']$ $P_0$ | Osmotischer Druck cm Wasser: gefunden $P_1$ | $B = \frac{P_0 - P_1}{P_0} . 100$ | $F = B + \frac{100}{n\alpha}$ wenn $n = 2$ | $F = B + \frac{100}{n\alpha}$ wenn $n = 3$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 98,0 | 5,00 | 0,14 | 0,72 | 116,4 | 88,0 | 24,4 | 94 | 71 |
| 48,6 | 2,60 | 0,04 | 0,77 | 62,2 | 44,5 | 28,5 | 93 | 72 |
| 19,3 | 1,11 | 0,05 | 0,85 | 24,9 | 17,2 | 31 | 90 | 70 |
| 9,5 | 0,61 | 0,06 | 0,88 | 12,1 | 7,2 | 41 | 98 | 79 |
| | | | | | | $F$-Mittelwert | 94 | 73 |

Für Histonchlorid war die Abnormität des Druckes jedenfalls sehr groß. Welcher Druck theoretisch von den Histonionen kommen dürfte, läßt sich nicht berechnen, da Molekulargewicht und Valenz von Histonchlorid unbekannt sind. Die gefundenen Drucke waren aber in allen Fällen und höchst bedeutend kleiner als diejenigen, die man nach der klassischen Theorie durch die Verteilung der Chlorionen allein berechnen konnte. $B$ bedeutet die prozentische Erniedrigung des für *nur Cl-Ionen* berechneten Druckes und war bei den untersuchten Konzentrationen etwa 25 bis 40 Proz. Die Konzentration der Chlorionen wurde elektrometrisch gemessen. Die Versuchsfehler konnten



*Tabelle XXXII b.*
Osmotischer Druck des Histonchlorids (dieselben vier Messungen wie in Tabelle XXXII a).

| $10^2 . \sqrt{c} = 10^2 \sqrt{\frac{[Cl'_i]}{n\alpha} - [Cl'_a]}$ | $P_k = \left([Cl'_i]\frac{n+1}{n\alpha} - 2[Cl'_a]\right) . 24{,}67 . 10^3$ cm Wasser | 100 Θ gefunden | 100 Θ berechnet für $a = 10 . 10^{-8}$ | 100 Θ berechnet für $a = 50 . 10^{-8}$ | wenn n |
|---|---|---|---|---|---|
| 5,77 | 250,2 | 64,8 | 4,9 | 1,6 | 2 |
| 4,06 | 122,9 | 63,8 | 3,8 | 1,5 | 2 |
| 2,45 | 45,9 | 62,5 | 2,6 | 1,4 | 2 |
| 1,70 | 22.7 | 68 | 1,9 | 1,2 | 2 |
| 4,67 | 221,5 | 60,3 | 8,1 | 2,5 | 3 |
| 3,30 | 109,0 | 59,2 | 6,5 | 2,6 | 3 |
| 1,98 | 40,5 | 57,5 | 4,4 | 2,4 | 3 |
| 1,30 | 19,7 | 63 | 3,1 | 2,2 | 3 |
| 4,00 | 207,2 | 57,5 | 11,5 | 3,4 | 4 |
| 2,83 | 102,1 | 56,4 | 9,0 | 3,3 | 4 |
| 1,67 | 38,0 | 54,7 | 6,0 | 3,0 | 4 |
| 1,05 | 18,5 | 61 | 4,3 | 2,6 | 4 |

dabei nur einige Prozente, wie bei allen Cl'-Messungen, betragen, wie die sehr wahrscheinlichen $\alpha$-Werte von Tabelle XXXI zeigen. Die Berechnungen nach der neueren Theorie haben nur relativen Wert, da sowohl Valenz wie Dimensionen der Histonionen unbekannt sind. 100 $\Theta$ wurde doch für $n = 2$, 3 und 4 (die Molekulargewichte 2200, 3300 bzw. 4400 entsprechend) und für $a = 10 . 10^{-8}$ und $50 . 10^{-8}$ berechnet. Auch wenn $n = 4$ und $a = 10 . 10^{-8}$ angenommen werden, kann die potentielle Energie der Histonchloridlösung bei weitem nicht die gefundenen großen $\Theta$-Werte allein erklären, ja selbst wenn man annehmen wollte, daß Histonchlorid achtwertig wäre, konnte dies allein nicht so kleine Drucke hervorrufen wie die gefundenen.

Daß ein kleinerer Druck gefunden wurde, als was für die sicher festgestellte Konzentration des einen Ions berechnet werden konnte, zeigt, daß wenigstens nicht *nur* Aggregation die Abnormität hervorgerufen hatte. Da die Chlorionen ferner einwertig, die Histonionen aber sicher mehrwertig sind, ist die Abnormität wahrscheinlich nicht durch „osmotische Unwirksamkeit“ der letzteren Ionen hervorgerufen worden. Man muß vielmehr annehmen, daß die Chlorionen zum Teil oder ganz „osmotisch unwirksam“ waren. $F$ zeigt dann, wie man sich durch eine einfache Herleitung leicht überzeugen kann, die prozentische Menge der Chlorionen, die nach dieser Betrachtungsweise „osmotisch unwirksam“ sein sollten, wenn übrigens der Druck aus der Partikelanzahl nach *van 't Hoffs* Gesetz berechnet wird und keine Aggregation vorkommt. Es soll darauf hingewiesen werden, daß, trotz großer Variationen in $B$ mit der Konzentration, $F$ innerhalb der Versuchsfehler ziemlich konstant war.

*Tabelle XXXIII.*

Dissoziationsgleichgewicht des Protaminchlorids.

| Gramm Protaminchlorid auf 1 Liter | Grammäquivalente pro Liter $c \cdot 10^4$ | $V = \frac{1}{c}$ | $[Cl'] \cdot 10^3$ | $\Lambda_v$ | $\alpha_{Cl'}$ | $\alpha_\Lambda$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11,47 | 423 | 23,6 | 27,6 | — | 0,65 | — |
| 8,88 | 328 | 30,5 | 22,3 | 75,4 | 0,68 | 0,65 |
| 4,44 | 164 | 61 | 11,6 | 77,7 | 0,71 | 0,67 |
| 2,32 | 85,6 | 117 | 6,45 | 83,5 | 0,75 | 0,72 |
| 1,16 | 42,8 | 234 | 3,48 | 90,4 | 0,81 | 0,78 |
| 0,58 | 21,4 | 467 | 1,84 | 97,4 | 0,86 | 0,84 |
| 0,29 | 10,7 | 934 | 0,95 | 100,9 | 0,89 | 0,87 |
| 0,145 | 5,35 | 1870 | 0,50 | 106,7 | 0,93 | 0,92 |
| 0,072 | 2,67 | 3740 | 0,256 | 110,2 | 0,96 | 0,95 |
| 0,000 | 0,00 | $\infty$ | 0,000 | 116,0 | 1,00 | 1,00 |

Nach den Analysen (S. 519) enthält das Salz 0,37 Atomproz. Chlor, was 1 g-Äquivalent Chlor auf 271 g lufttrockenes Protaminchlorid entspricht. Das Äquivalentgewicht wurde deshalb gleich 271 gesetzt.

Aus Leitfähigkeitsmessungen und Chlorionenbestimmungen wurde nahezu derselbe Dissoziationsgrad berechnet. Über die Valenz der Protaminionen kann aber, wie beim Histon, nichts Sicheres gesagt werden, da das Molekulargewicht auch hier unbekannt ist. Wenn man voraussetzen könnte, daß *Ostwald-Waldens* Regel für Protaminchlorid gälte, sollten die Protaminione dreiwertig sein ($\Lambda_{1024} - \Lambda_{32} = 28{,}5$). Eine gewisse Wahrscheinlichkeit erhält dieser Wert auch aus dem Verhältnis N : Cl = 10 : 3 nach den Analysen. Die Dreiwertigkeit kann aber nicht als bewiesen angesehen werden.

*Tabelle XXXIV.*

Osmotischer Druck des Protaminchlorids.

| Gramm Protaminchlorid auf 1 Liter | $[Cl'] \cdot 10^3$ in Gleichgewicht | | $\alpha$ Graphisch aus Tabelle XXXIII extrapoliert | Osmotischer Druck ccm Wasser | | $B = \frac{P_0 - P_1}{P_0} \cdot 100$ | $F = B + \frac{100}{n\alpha}$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen $[Cl'_i]$ | außen $[Cl'_a]$ | | berechnet f. d. Konz. $[Cl'_i] - 2[Cl'_a]$; $P_0$ | gefunden $P_1$ | | wenn $n = 2$ | wenn $n =$ |
| 3,96 | 10,00 | 0,10 | 0,72 | 241,8 | 218,2 | 9,8 | 79 | 56 |
| 1,98 | 5,50 | 0,06 | 0,77 | 132,7 | 114,9 | 13,4 | 78 | 57 |
| 0,98 | 2,80 | 0,03 | 0,83 | 67,6 | 57,4 | 15,1 | 75 | 55 |
| 0,50 | 1,54 | 0,03 | 0,87 | 36,5 | 31,3 | 14,2 | 72 | 53 |
| | | | | | | $F$-Mittelwert | 76 | 55 |



*Tabelle XXXV a.*

Gefrierpunktserniedrigung für Protaminchlorid.

| Gramm Protaminchlorid auf 1 Liter | $[Cl'] \cdot 10^3$ | "Cl' | Gefrierpunktserniedrigung: ber. für die $[Cl']$ $\Delta_{ber.}$ | Gefrierpunktserniedrigung: gefunden $\Delta_{gef.}$ | $B = \frac{\Delta_{ber.} - \Delta_{gef.}}{\Delta_{ber.}} \cdot 100$ | $F = B + \frac{100}{n\alpha}$ wenn $n = 2$ | $F = B + \frac{100}{n\alpha}$ wenn $n = 3$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11,47 | 27,6 | 0,65 | 0,051 | 0,048 | 6 | 83 | 57 |
| 8,03 | 20,0 | 0,67 | 0,037 | 0,035 | 5 | 80 | 55 |
| 5,74 | 14,6 | 0,70 | 0,027 | 0,024 | 11 | 83 | 58 |
| | | | | | *F*-Mittelwert | 82 | 57 |

*Tabelle XXXV b.*

Osmotischer Druck und Gefrierpunktserniedrigung für Protaminchlorid. (Dieselben Bestimmungen wie in Tabelle XXXV a.)

| $10^2 V_c = 10^2 \cdot \sqrt{\frac{[Cl'_i]}{n\alpha}} - [Cl'_a]$ | $P_k = \left(\frac{[Cl'_i](n+1)}{n\alpha} - 2[Cl'_a]\right) \cdot 24{,}67 \cdot 10^3$ cm Wasser | 100 ϑ gefunden | 100 ϑ berechnet für $\alpha = 10 \cdot 10^{-8}$ | 100 ϑ berechnet für $\alpha = 50 \cdot 10^{-8}$ | wenn n |
|---|---|---|---|---|---|
| 8,28 | 509,2 cm | 57,1 | 6,0 | 1,7 | 2 |
| 5,92 | 261,3 " | 56,0 | 5,0 | 1,7 | 2 |
| 4,07 | 123,4 " | 53,5 | 3,8 | 1,5 | 2 |
| 2,93 | 64,1 " | 51,2 | 3,0 | 1,4 | 2 |
| 14,57 | 0,118° | 59 | 7,4 | 1,4 | 2 |
| 12,22 | 0,083° | 58 | 7,0 | 1,5 | 2 |
| 10,21 | 0,058° | 59 | 6,6 | 1,6 | 2 |
| 6,73 | 452,0 cm | 51,7 | 9,8 | 2,3 | 3 |
| 4,82 | 231,9 " | 50,5 | 8,2 | 2,5 | 3 |
| 3,31 | 109,5 " | 47,6 | 6,6 | 2,6 | 3 |
| 2,37 | 56,7 " | 44,8 | 5,1 | 2,6 | 3 |
| 11,90 | 0,105° | 54 | 11,7 | 1,9 | 3 |
| 9,98 | 0,074° | 53 | 11,3 | 2,1 | 3 |
| 8,34 | 0,051° | 53 | 10,7 | 2,2 | 3 |
| 5,81 | 423,3 cm | 48,5 | 13,5 | 3,2 | 4 |
| 4,16 | 217,3 " | 47,1 | 11,6 | 3,4 | 4 |
| 2,85 | 102,4 " | 44,0 | 9,2 | 3,5 | 4 |
| 2,02 | 53,0 " | 40,9 | 7,0 | 3,4 | 4 |
| 10,31 | 0,098° | 51 | 16,0 | 2,5 | 4 |
| 8,64 | 0,069° | 49 | 15,3 | 2,8 | 4 |
| 7,22 | 0,048° | 50 | 14,6 | 3,0 | 4 |

Eine Berechnung des Druckes ist wie bei Histonchlorid unmöglich. Aus den Tabellen geht mit Sicherheit hervor, daß der Druck wesentlich kleiner als der für die Chlorionen allein berechnete war. Dies war sowohl bei direkter Messung als bei Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung der Fall.

Die Größe des Dissoziationsgrades macht es sehr unwahrscheinlich, daß Protaminchlorid in Wasserlösung in höherem Grade aggregiert sein dürfte. Da die Substanz auch von ziemlich weichen Kollodiummembranen beinahe vollständig zurückgehalten wurde, kann wohl das Molekulargewicht nicht sehr weit unter 1000 liegen. Dies entspricht auch für die Annahme eines mehrwertigen Protaminions, indem das Äquivalentgewicht, wie gesagt, 271 war. Ist das Chlorid dreiwertig, erhält man $M = 813$, was ein plausibler Wert ist.

Die Berechnung von $\Theta$ geschah wie beim Histonchlorid. Auch hier können die interionischen Kräfte nicht allein den kleinen Druck erklären, sogar nicht wenn Protaminchlorid achtwertig wäre und wenn man trotzdem einen so kleinen $a$-Wert wie $10 \cdot 10^{-8}$ cm annähme. Man muß deshalb auch bei Protaminchlorid annehmen, daß die Chlorionen vollständig oder zum Teil osmotisch unwirksam waren. $B$ und $F$ haben dieselbe Bedeutung wie in Tabelle XXXIII für Histonchlorid. Für Protaminchlorid war $B$ ziemlich klein und mit der Konzentration stark variabel. $F$ war innerhalb der Versuchsfehler konstant.

An dieser Stelle erlaube ich mir, auch einige Resultate von *W. Biltz* (13) über den Druck der Farbstoffe Brillantkongo, Kongoreinblau und Chicagoblau anzuführen.

*Tabelle XXXVI.*

Der osmotische Druck einiger Farbstoffe nach *W. Biltz.*

| Substanz | Konz. in Proz. | Molare Konz. $c \cdot 10^3$ | $\alpha$ | Osmotischer Druck cm Wasser berechnet | Osmotischer Druck cm Wasser gefunden | $A$ | $F$ | $F$-Mittelwert |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Brillantkongo, Molekulargewicht 826,5 | 0,023 | 0,278 | 0,92 | 25,9 | 12,8 | 50,6 | 68,9 | 68 |
| | 0,041 | 0,496 | 0,89 | 45,1 | 21,6 | 52,1 | 71,6 | |
| | 0,0575 | 0,696 | 0,86 | 61,7 | 32,7 | 47,0 | 65,2 | |
| | 0,082 | 0,992 | 0,83 | 85,7 | 46,1 | 46,2 | 65,7 | |
| Kongo reinblau, Molekulargewicht 993 | 0,028 | 0,282 | 0,82 | 29,9 | 11,7 | 60,9 | 79,5 | 72 |
| | 0,045 | 0,453 | 0,76 | 45,3 | 20,4 | 55,0 | 73,1 | |
| | 0,073 | 0,735 | 0,71 | 69,9 | 35,9 | 48,6 | 65,7 | |
| | 0,087 | 0,876 | 0,70 | 82,5 | 39,6 | 52,0 | 70,6 | |
| Chicagoblau, Molekulargewicht 993 | 0,023 | 0,232 | 0,81 | 24,4 | 10,5 | 57,0 | 74,7 | 70 |
| | 0,043 | 0,433 | 0,74 | 42,5 | 20,0 | 52,9 | 70,9 | |
| | 0,045 | 0,453 | 0,73 | 44,0 | 21,1 | 52,0 | 69,8 | |
| | 0,0664 | 0,669 | 0,69 | 62,3 | 31,5 | 49,4 | 67,3 | |
| | 0,078 | 0,785 | 0,67 | 71,5 | 37,0 | 48,3 | 66,4 | |

Aus *Biltz'* Ziffern wurden $C$, $P_{\text{ber.}}$, $A$ und $F$ in gewöhnlicher Weise berechnet. $\alpha$ wurde aus *Biltz'* Leitfähigkeitsbestimmungen durch graphische Interpolation erhalten. Da ich keinen der Farbstoffe bekommen konnte, fehlen Bestimmungen von $V$ (relatives Molarvolumen). Da die Farbstoffe mehrere Benzolkerne enthalten, haben sie sicher eine verhältnismäßig große Dichtigkeit. Trotz des größeren Molekular-

gewichtes der Farbstoffe ist es vielleicht nicht wahrscheinlich, daß das Molarvolumen in Proportion größer als das der Taurocholsäure ist. Der Reihenfolge nach stimmen die Resultate von *Biltz* mit meinen Untersuchungen, indem die Abnormitäten größer als für Taurocholsäure waren und mit wachsender Molekulargröße auch ansteigen. Die isomeren Farbstoffe Kongoreinblau und Chicagoblau gaben ungefähr dieselben *A*-Werte. Auch hier können die Ionenpotentiale, wie man sich durch eine einfache Rechnung leicht überzeugt, nicht die großen Abweichungen erklären, auch trotzdem die letzten zwei Farbstoffe vierwertig sind.

Es ist nach den jetzt beschriebenen Versuchen wahrscheinlich, daß bei „Kolloidelektrolyten" im allgemeinen die oft wahrgenommene Abnormität des Druckes auf einer partiellen oder totalen osmotischen Unwirksamkeit der kleineren Ionen beruhen kann.

Um einen einheitlichen Gesichtspunkt auf die Frage anzulegen[1]), kann man sich wenigstens vorläufig denken, daß nur die kleineren Ionen sich osmotisch abnorm verhalten. Es ist dann leicht durch ein schematisches Bild der Ionen eines Kolloidelektrolyten eine scheinbare Erklärung dieser Abnormität zu finden. Als Arbeitshypothese könnte man dann folgendes annehmen.

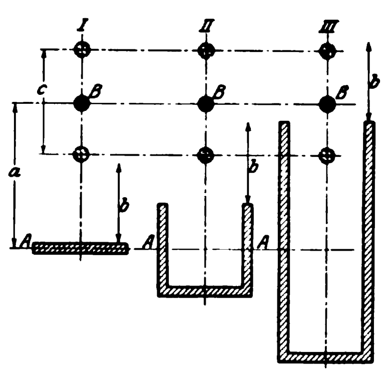


Abb. 18.

Voluminöse Ionen haben Lücken in ihren Atomkomplexen. Schematisch kann dies einfach durch die Form eines hohlen Zylinders dargestellt werden (Abb. 18).

*A* ist das voluminöse Ion, *B* das kleinere Ion. Bei den Bewegungen der Ionen gegeneinander ist es dann möglich, daß in gewissen Fällen das kleinere Ion sich innerhalb der Oberfläche des voluminösen Ions befindet.

Man kann weiter annehmen, daß innerhalb eines kleinsten Abstandes *b* zwischen den Oberflächen der Ionen beide in osmotischer Hinsicht als eine einheitliche Masse wirken, wie ja die verschiedenen Atomkomplexe eines Ions keine selbständigen osmotischen Wirkungen haben. Die Amplitude der gegenseitigen Bewegungen der Ionen, in den Abbildungen als Bewegungen nur des kleineren Ions gedacht, sei *c*.

---

[1]) Die folgende Diskussion ist in einer vorläufigen Mitteilung von *E.* und *H. Hammarsten* ausgeführt (24).

In 1 ist der Abstand zwischen $A$ und $B$ immer größer als $b$. Dieser Fall stellt deshalb ein in osmotischer Hinsicht normales Elektrolyt dar, z. B. die Guanylsäure. In 2 ist der Abstand bei gewissen Lagen von $B$ kleiner und bei gewissen Lagen größer als $b$. In der Lösung einer solchen Substanz gibt es also in jedem Augenblick $B$-Ionen, die osmotisch unwirksam, sowohl wie $B$-Ionen, die in gewöhnlicher Weise druckleistend sind. Dies sollte dann der Fall bei z. B. den Gallensäuren und gewissen Farbstoffen sein. In 3 endlich befindet sich $B$ immer in einem Abstand von $A$, der kleiner als $b$ ist. $B$ sollte also osmotisch ganz unwirksam sein, und der Druck würde derselbe wie für undissoziierte Moleküle, wie es z. B. für die Thymonucleinsäure der Fall ist.

Es muß hervorgehoben werden, daß nach dieser Betrachtungsweise nur Eigenschaften, die von der Partikelanzahl abhängen, beeinflußt werden. Für elektrische Ladungen z. B. muß man sich denken, daß Form und Abstand der Ionen nicht von wesentlichem Einfluß sind, daß z. B. das Ionengleichgewicht ohne Störung zustande kommt, wie ja die Messungen an mehreren Kolloidelektrolyten auch zeigten.

Es dürfte unnötig sein, darauf hinzuweisen, daß diese hypothetische Betrachtungsweise nur den Zweck hat, zu zeigen, daß die graduelle Abnormität des osmotischen Druckes gewisser hochmolarer Stoffe auf die Größenverhältnisse der betreffenden Ionen prinzipiell zurückgeführt werden kann. Diese Hypothese, die von *E.* und *H. Hammarsten* (2) (24) aufgestellt wurde, macht selbstverständlich keinen Anspruch darauf, die Sache endgültig zu erklären.

Wenn die Valenzen des kleineren und des größeren Ions 1 bzw. $n$ sind und die prozentische Abweichung des Druckes ($A$) wie oben definiert wurde, so ist, wenn vorläufig keine Rücksicht auf den Milnereffekt oder auf etwaige Aggregation genommen wird, die prozentische Menge der kleineren Ionen, die osmotisch unwirksam sind, $F = \frac{1 + n\alpha}{n\alpha} \cdot A$[1]; ($\alpha$ Dissoziationsgrad, elektrisch gemessen). Tabelle XXXVII gibt eine Zusammenstellung der $F$- und $V$-Werte einiger Substanzen. Da $n$ für Histon- und Protaminchlorid unbekannt war, wurden die Werte 2 und 3 versuchsweise eingesetzt; für Protaminchlorid war nach obigem 3 wahrscheinlicher. Histon hat sicher ein höheres Molekulargewicht als Protamin. Der Wert $F = 94$, zweiwertigem Histonchlorid entsprechend, würde beinahe vollständige osmotische Unwirksamkeit der Chlorionen bedeuten. Es muß hervorgehoben werden, daß die Berechnungen von $F$ für Protamin- und Histonchlorid auf sehr losen

[1] Für Histon- und Protaminchlorid ist in derselben Weise $F = B + \frac{100}{n\alpha}$; ($B$ prozentische Abweichung von dem Druck der Chlorionen).

Grund bauen, da die Zusammensetzung dieser Chloride, besonders des Histonchlorids, vielleicht eine zufällige war.

*Tabelle XXXVII.*

Zusammenstellung druckabweichender Substanzen.

| Substanz | Molekulargewicht $M$(ber.) | Molekularvolumen $V$(gef.) | $F$ | Autor |
|---|---|---|---|---|
| Kongorot | 696,5 | — | 100[1]) | *Biltz* usw. |
| „ | 696,5 | — | etwa 88 für $\alpha = 0{,}8$–$0{,}9$ | *Jorpes* und *Hellgren* |
| Brillantkongo | 826,5 | — | 68 | *Biltz* |
| Kongoreinblau | 993 | — | 72 | „ |
| Chicagoblau | 993 | — | 70 | „ |
| Thymonucleinsäure | 1425 (etwa) | 837 (etwa) | 100[2]) | *E. Hammarsten* |
| Thymonucleinsaures $Na_4$ | 1545 „ | 817 „ | 100[3]) | „ |
| Guanylsäure | 363,2 | 197 | 0 | *H. Hammarsten* |
| Guanylsaures $Na_2$ | 407,2 | 167 | 0 | „ |
| Glykocholsaures Na | 487,5 | 365 | 31,5 | „ |
| Taurocholsäure | 515,6 | 383 | 56,2 | „ |
| Taurocholsaures Na | 537,6 | 387 | 56,0 | „ |
| Histonchlorid, wenn 2 wertig | 2200 (etwa) | 1630 (etwa) | 94 | „ |
| „ „ 3 „ | 3300 „ | 2445 „ | 73 | „ |
| Protaminchlorid „ 2 „ | 542 | 387 | 82 | „ |
| „ „ 3 „ | 813 | 586 | 57 | „ |

Aus den Messungen geht hervor, daß $F$ *mit steigendem Molarvolumen zunimmt*. Es wird auch ohne weiteres ersichtlich, daß $F$ *nicht in einer einfachen mathematischen Beziehung zu $V$ steht*, was ja kaum nicht zu erwarten war. Die spezifischen Eigenschaften eines Ions, z. B. die Form und Weite der hypothetischen Lücken, müssen nach der obigen Betrachtungsweise von ganz entscheidender Bedeutung für den Druck sein. Die potentielle Energie der Ionen ist dann auch für einen Teil der Druckerniedrigung verantwortlich.

Solange $B$ im Vergleich mit $A$ *sehr* klein ist, sollten die Eigenschaften des kleineren Ions $B$ nicht von wesentlicher Bedeutung für den Druck sein. Dies stimmt mit der Tatsache, daß H- und Na-Verbindungen wenigstens sehr nahe dieselben $F$-Werte zeigen.

Vertauscht man nun aber $B$ gegen immer größere Ionen, müßte man sich als am nächsten liegend vorstellen, daß bei einer gewissen Größe dieser Ionen sie nicht mehr in den Raum von $A$ eindringen könnten, was zur Folge haben sollte, daß der Druck dann plötzlich ansteigen müßte.

---

[1]) 3 bis 10 proz. Aggregation angenommen. — [2]) 30 proz. Aggregation angenommen. — [3]) 22 proz. Aggregation angenommen.

Um dies zu untersuchen, habe ich den osmotischen Druck von Salzen der Taurocholsäure mit Basen von ziemlich großem Molarvolumen gemessen. Die Basen waren Tetramethylammoniumhydrat mit 17 Atomen im Kation und Triisoamylamin mit 50 Atomen im Kation.

Die erstgenannte Base ist so stark, daß keine Hydrolyse vorkommen kann, weshalb der Druck direkt gemessen wurde. Bei Versuchen mit Triisoamylamin dagegen wurde der Gefrierpunkt bestimmt.

*Tabelle XXXVIII.*

Osmotischer Druck des Tetramethylammoniumtaurocholats.

| Molare Konzentration . $10^3$ in Gleichgewicht | | $\alpha$ innen | Osmotischer Druck cm Wasser | | $A$ | $F$ | $100\,\theta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | gefunden | berechnet für | |
| innen | außen | | berechnet | gefunden | | | | $a = 0 . 10^{-8}$ | $a = 10 . 10^{-8}$ |
| 3,04 | 0,03 | 0,97 | 146,3 | 104,2 | 28,8 | 58,5 | 29,8 | 2,1 | 1,7 |
| 2,32 | 0,02 | 0,97 | 111,8 | 83,7 | 25,1 | 51,0 | 26,2 | 1,8 | 1,5 |
| 2,27 | 0,02 | 0,97 | 109,4 | 76,8 | 29,8 | 60,5 | 30,8 | 1,8 | 1,5 |
| 1,88 | 0,02 | 0,97 | 90,4 | 66,2 | 26,8 | 54,4 | 27,9 | 1,7 | 1,4 |

Mittelwert $F$ = 56,1 Proz.

*Tabelle XXXIX.*

Gefrierpunktserniedrigung für Triisoamylammoniumtaurocholat.

| Molare Konzentration . $10^3$ | $\alpha$ | Gefrierpunktserniedrigung | | $A$ | $F$ | $100\,\theta$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | gefunden | berechnet für | |
| | | berechnet | gefunden | | | | $a = 0 . 10^{-8}$ | $a = 10 . 10^{-8}$ |
| 33,7 | 0,86 | 0,116 | 0,110 | 5,2 | 11,2 | 12 | 7,0 | 3,4 |
| 27,5 | 0,87 | 0,095 | 0,092 | 3,2 | 6,9 | 9,8 | 6,3 | 3,2 |
| 20,3 | 0,89 | 0,071 | 0,070 | 1,4 | 3,0 | 6,7 | 5,4 | 3,0 |

Mittelwert $F$ = 7,0 Proz.

*Tabelle XL.*

$F$-Werte verschiedener Taurocholate (Anion $C_{43}H_{26}NSO_7'$ = 78 Atome).

| Kation | Atomanzahl des Kations | $F$ |
|---|---|---|
| $H^{\cdot}$ . . . . . . . . . . | 1 | 56,2 |
| $Na^{\cdot}$ . . . . . . . . . | 1 | 56,0 |
| $(CH_3)_4N^{\cdot}$ . . . . . . . | 17 | 56,1 |
| $(C_5H_{11})_3HN^{\cdot}$ . . . . . | 50 | 7,0 |

Die Dissoziationsgrade wurden gleich denen für das Natriumsalz (Tabelle XXVIII) gesetzt. Die Ausbeute einer starken Base gegen eine andere von derselben Stärke kann die Dissoziation nicht wesentlich beeinflussen, weshalb dies keine erheblichen Fehler bewirken kann.

Die Abnormität des Druckes von Tetramethylammoniumtaurocholat war innerhalb der Versuchsfehler dieselbe, wie die des Natriumsalzes und der freien Säure. Das Triisoamylaminsalz hatte dagegen einen Druck, der dem theoretischen Werte viel näher lag, indem der Druck nur wenige Prozente kleiner als dieser war, nach welcher Theorie er auch berechnet wurde. Diese kleine Abweichung kann sogar möglicherweise auf Versuchsfehlern beruhen. Wie dem auch sein mag, ist es indessen nach der hier benutzten Betrachtungsweise ganz deutlich, daß dieses Kation zu groß ist, um in derselben Weise wie H- und Na-Ionen von dem Taurocholation „assimiliert" werden zu können, was zur Folge hat, daß das Kation auch osmotisch wirksamer wird. Durch den Eintritt von größeren Ionen statt $H^{\cdot}$ oder Na in den Taurocholaten wird die potentielle Ionenenergie kleiner, deshalb auch $100\,\Theta$ kleiner. Die Verminderung kann aber bei den Versuchskonzentrationen höchstens 1 bis 2 Proz. betragen, denn $100\,\Theta$ ist auch für $a = 0$ nicht größer. Die beobachteten Veränderungen waren indessen viel größer.

Ich erlaube mir, an dieser Stelle die Resultate einiger Untersuchungen von *E. Hammarsten* (2), *Hellgren* und *Jorpes* (18) über andere Aminverbindungen zu zitieren.

*Tabelle XLI.*

Druckabnormität bei kongo- und thymonucleinsauren Salzen.

| Anion der Thymonucleinsäure (nach *E. Hammarsten*) | | | Anion der Kongosäure (nach *Jorpes* und *Hellgren*) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Kation | Atomzahl des Kations | $\frac{P_{gef.}}{P_0}$ | Kation | Atomzahl des Kations | $\frac{P_{gef.}}{P_0}$ |
| $H^{\cdot}$ | 1 | 0,70 | $Na^{\cdot}$ | 1 | 1,20 |
| $Na^{\cdot}$ | 1 | 0,80 | $(CH_3)_3HN^{\cdot}$ | 14 | 1,24 |
| $H_4N^{\cdot}$ | 5 | 1,20 | $(C_2H_5)_3HN^{\cdot}$ | 23 | 1,83 |
| $(CH_3)_3HN^{\cdot}$ | 14 | 1,35 | $(C_3H_7)_3HN^{\cdot}$ | 32 | 2,91 |
| $(CH_3)_4N^{\cdot}$ | 17 | 1,45 | | | |
| $(C_2H_5)_3HN^{\cdot}$ | 23 | 1,50 | | | |
| $(C_3H_7)_3HN^{\cdot}$ | 32 | 1,74 | | | |

$P_0$ = Druck, berechnet für den molaren Zustand

Die Salze der Thymonucleinsäure gaben höhere Drucke, je größer das Volumen des Kations war. Der Druck war aber noch bei dem Tripropylaminsalz lange nicht normal, wenn man starke Dissoziation dieser Salze annehmen darf. Die Steigerung des Druckes von Kongosäure durch Einführung größerer Kationen war noch stärker. Bei diesen Substanzen fing die Zunahme des Druckes schon bei der Einführung von $H_4N^{\cdot}$ und $(CH_3)_3HN^{\cdot}$ an, während für Taurocholsäure noch $(CH_3)_4N^{\cdot}$-Ionen nicht den Druck erhöhen konnten. Bei einem Vergleich geht weiter hervor, daß die Einführung größerer Kationen den Druck von Kongosäure rascher erhöhten als dies für Thymonuclein-

säure der Fall war. Es ist auch — die Richtigkeit der Hypothese angenommen — selbstverständlich, daß die individuellen Eigenschaften von verschiedenen Stoffen eine große Rolle für den Druck spielen müssen, so daß man gleichartige Verhältnisse für so verschiedene Substanzen wie Taurocholsäure, Kongosäure und Thymonucleinsäure nicht erwarten kann. Nach der oben dargestellten Betrachtungsweise ist es ziemlich schwer, die graduelle Druckerhöhung der kongo- und thymonucleinsauren Salze zu erklären. Man würde eher erwartet haben, daß bei einer gewissen kritischen Größe des Kations der Druck sich sprungweise erhöhte, oder sogar normal werden sollte, wie dies möglicherweise für Taurocholsäure der Fall war. Um die graduelle Druckerhöhung zu erklären, könnte man annehmen, daß eine Deformation der Ionen das Eindringen von größeren $B$-Ionen in $A$ (Abb. 2) ermöglichen sollte. Diese Deformation müßte dann immer schwerer erreichbar sein, je größer $B$ im Verhältnis zu $A$ wird, wodurch eine sukzessive Erhöhung des Druckes resultieren würde.

Es zeigt sich aus allem deutlich, daß eine Menge schwer beurteilbarer Faktoren auf die Abnormität einwirken. Um sichere Schlüsse über diese ziehen zu können, wäre eine systematische und weitgehende Untersuchung vieler Substanzen notwendig. Vielleicht ist dann der Bau der Ionen von so kompliziertem Einfluß, daß einfache Beziehungen nicht erhalten werden können.

Indessen zeigt vorliegende Untersuchung, daß die bei hochmolaren Elektrolyten oft vorkommenden kleinen osmotischen Drucke nicht nur durch unvollständige Dissoziation, Aggregation oder durch interionische Kräfte erklärt werden können, sondern daß dazu noch ein reiner *Volumeffekt* hinzukommen kann.

### Schlußfolgerungen.

1. Die Guanylsäure ist eine mittelstarke Säure ($k_1 = 4{,}45 \cdot 10^{-3}$), die deshalb bedeutendes chemisches Reaktionsvermögen zeigt. Wenn sie in Zellen als selbständiger Baustein oder in der Form von Polynucleotiden vorkommt, muß sie deshalb eine große Veränderlichkeit des Zellinhaltes bewirken können.

2. Die Dissoziation des sekundären Natriumsalzes der Guanylsäure ist völlig normal, und aus derselben läßt sich eine Wanderungsgeschwindigkeit von 48,3 für das zweiwertige Guanylation berechnen.

3. Der osmotische Druck der freien Guanylsäure und des sekundären Natriumsalzes stimmen innerhalb der Fehlergrenzen der angewandten Methode mit der Theorie von *van 't Hoff-Arrhenius* überein.

4. Neutralsalze bewirken, selbst in sehr kleinen Konzentrationen, eine ganz erhebliche Erniedrigung des Druckes von di-Natriumguanylat.

5. Ampholyte vereinigen sich mit der Guanylsäure vollständig nur bei sehr großem Überschuß der einen oder anderen Komponente. Lösliche Ampholytsalze der Guanylsäure und vielleicht auch von anderen Nucleinsäuren, können deshalb in größeren Konzentrationen in den Zellen nur bei gewaltigem Überschuß des Ampholyts oder bei stark saurer Reaktion vorkommen.

6. Überwiegend basische Aminosäuren und Eiweißstoffe verbinden sich mit Guanylsäure zu Salzen, die bei Dialyse schon von sehr kleinen Konzentrationen an Neutralsalzen unter doppelter Umsetzung vollständig gespalten werden.

7. Histon und Guanylsäure können sich nur bei saurer Reaktion zu einer wasserlöslichen Verbindung vereinigen.

8. Während die Glykocholsäure eine verhältnismäßig kleine Dissoziationskonstante ($k = 4{,}0 \cdot 10^{-5}$) hat, ist die nahe verwandte Taurocholsäure eine sehr starke Säure, was auf verschiedene Anlagerung von Glykokoll bzw. Taurin zurückgeführt werden kann.

9. Der osmotische Druck von hochmolaren Elektrolyten wird nicht nur von Dissoziationszustand, Aggregation und interionischen Kräften, sondern auch von dem Molarvolumen der Substanz beeinflußt und ist deshalb oft kleiner als man nach *van 't Hoff-Arrhenius'* oder nach *Bjerrum-Debyes* Theorien erwarten konnte. Dieses wurde für Glykocholsäure, Taurocholsäure, Histon und Protamin bei verschiedenen Salzen nachgewiesen.

10. Bei Substanzen $AB$ mit $B$-Ionen, die im Verhältnis zu den $A$-Ionen sehr klein sind, wächst die Abnormität des Druckes mit dem Volumen ($V_A$) von $A$.

11. Die Abweichung des osmotischen Druckes von dem berechneten Werte ist eine Funktion aus dem Verhältnis $V_A/B_B$, zwischen dem Volumen des größeren und des kleineren Ions. Wird das kleinere Ion $B$ durch immer größere vertauscht, wächst der Druck.

12. Da hochmolare Elektrolyte mit sehr verschiedenen Verhältnissen $V_A/V_B$ in den Zellen vorkommen, müssen die chemischen Reaktionen dieser Stoffe, z. B. die in 6. erwähnte Reaktion, erhebliche Änderungen des Diffusionsgleichgewichtes und somit der Wasserverteilung der Zellen hervorrufen können.

Die Ausführung dieser Arbeit wurde durch das Entgegenkommen des Herrn Prof. *J. Sjöqvist* ermöglicht, indem er mir das physiologisch-chemische Laboratorium des Karolinischen Instituts zu Stockholm zur Verfügung stellte. Ich benutze hier die Gelegenheit, Herrn Prof. *Sjöqvist* für dies und für sein Interesse an der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

**Literatur.**

1) *H. Steudel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 402; **46**, 332; **49**, 406; **56**, 212. — 2) *E. Hammarsten*, diese Zeitschr. **144**, H. 5/6. — 3) *I. Bang*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**, 133. — 4a) *H. Steudel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 539; **68**, 40. — 4b) *H. Steudel* und *E. Peiser*, ebendaselbst **114**, 201. — 5) *R. Feulgen*, ebendaselbst **106**, 249; **108**, 147; **111**, 257; **123**, 145 und 197. — 6) *H. Steudel* und *E. Peiser*, ebendaselbst **120**, 292. — 7) *P. A. Levene* und *W. A. Jacobs*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, 2469. — 8) *L. Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration. Verlag J. Springer, Berlin 1922. — 9) *W. Ostwald*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **2**, 840. — 10a) *Fr. Donnan*, Zeitschr. f. Elektrochem. **17**. — 10b) *Fr. Donnan* und *A. B. Harris*, Transact. of the Chem. Soc. Lond. **99**, 2, S. 1554, 1911. — 10c) *Fr. Donnan* und *G. M. Green*, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A., **90**, 450, 1914. — 10d) *Fr. Donnan* und *W. E. Garner*, Transact. of the Chem. Soc. London **115**, 1313, 1919. — 11) *A. Kossel* und *Fr. Kutscher*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 188, 1900. — 12) *I. Bang*, Beiträge zur chem. Phys. u. Pathol. **1**, 189; **4**, 115 und 362; **5**, 317. — 13) *W. Biltz* und *A. v. Vegesack*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **68**, 357, 1909. — 13b) *Dieselben*, ebendaselbst **73**, 481, 1910. — 13c) *W. Biltz*, ebendaselbst **77**, 91, 1911. — 13d) *Derselbe*, ebendaselbst **83**, 625, 1913. — 14) *Bayliss*, Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Kolloide **6**, 23. — 15) *J. Loeb*, Proteins and the Theory of colloidal Behavior 1922. — 16) *F. Krafft* und *A. Stern*, Ber. d. Deusch. chem. Ges. **27**, 1747 und 1755; *F. Krafft* und *H. Wiglow*, ebendaselbst **27**, 2566, 1895; **29**, 2, S. 1328, 1334, 1896. — 17) *Moore* und *Parker*, The amer. Journ. of Physiol. **7**, 261, 1902. — 18) *E. Jorpes* und *G. Hellgren*, diese Zeitschr. **145**, H. 1/2. — 19) *A. Kossel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**, 178, 1896. — 20) *M. Sobolew*, Prot. d. Kais. Mosk. Ges. f. Naturwiss. usw. Nr. 46, 1895. — 21) *A. Rosenheim* und *F. Kohn*, Zeitschr. f. anorg. Chem. **69**, 247, 1911. — 22) *M. H. Copaux*, Ann. d. chim. phys. (8) **18**, 217, 1909. — 23) *S. Arrhenius*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **2**, 491, 1888. — 24) *E.* und *H. Hammarsten*, Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi, Kungl. Svenska Vetensk. Akad. **8**, 27. — 25) *N. Bjerrum*, Zeitschr. f. anorg. und allgem. Chem. **129**, 323, 1923. — 26) *P. Debye*, Physikal. Zeitschr. Nr. 16, S. 334, 1923; *P. Debye* und *Hückel*, ebendaselbst Nr. 9, S. 185, 1923.



# Über die Veränderungen des Blutzuckers. I.

Von

**Shigemi Nakahayashi und J. Abelin.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

*(Eingegangen am 23. März 1924.)*

Der quantitativen Bestimmung des Blutzuckers ist eine unzählige Reihe von Untersuchungen gewidmet. Die qualitative Seite des Blutzuckerproblems wurde nur wenig berührt. Es gebührt *Winter* und *Smith*[1]) das Verdienst, die Frage nach der *Natur* des Blutzuckers experimentell eingehend behandelt zu haben. *Winter* und *Smith* gingen von der Tatsache aus, daß der Polarisationswert des Blutzuckers mit seinem Reduktionswert nicht übereinstimmt. Dieser Befund ist an sich nicht neu. Verschiedene Forscher haben ähnliche Beobachtungen gemacht[2]). In einer Veröffentlichung von *Oppler*[3]) aus dem Jahre 1911 wird die Erscheinung vielfach diskutiert. Das Neue in den Arbeiten von *Winter* und *Smith* betrifft weniger die Problemstellung, als die Art der Erklärung. Man hat versucht, die Differenz in den Ergebnissen der Reduktionsmethoden und der Polarisationsanalyse durch das Vorhandensein im Blute noch anderer sowohl reduzierender als auch optisch aktiver Stoffe zu erklären. Der Drehungswert des Blutzuckers wurde aber stillschweigend als konstant vorausgesetzt. *Winter* und *Smith* haben nun gezeigt, daß der Drehungswert des Blutzuckers, ebenso wie derjenige der natürlichen Glykose, bedeutenden Schwankungen unterworfen ist. Läßt man nämlich eine Blutzuckerlösung stehen, so bleibt ihr Reduktionsvermögen gegenüber einer alkalischen Kupfersulfatlösung unverändert. Die Rechtsdrehung des Blutzuckers des gesunden Menschen oder des normalen Tieres nimmt aber mit der Zeit zu. Nach einigen Tagen erreicht der Polarisationswert den Reduktionswert. Anders sollen die Verhältnisse in vielen Fällen von Diabetes

---

1) *Winter* und *Smith*, Journ. of Physiol. **57**, 1922.

2) Vgl. *W. Stepp*, Ergebn. d. Physiol. **20**, 1922.

3) *B. Oppler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **64** und **75**.

vorliegen. Auch hier findet man nach *Winter* und *Smith* eine Differenz zwischen den Polarisations- und den Reduktionszahlen, diese Differenz hat aber ein anderes Vorzeichen. Die frisch hergestellte Zuckerlösung aus dem Blute des Diabetikers zeigt oft einen Polarisationswert, der *höher* ist als der Reduktionswert. Erst nach mehrtägigem Stehen geht die Drehungskraft des Diabetikerzuckers so weit zurück, daß sie den Reduktionswert erreicht. *Winter* und *Smith* führen diese Erscheinungen auf verschiedene intramolekulare Umlagerungen im Blutzuckermolekül zurück. Beim Traubenzucker wird diese „Mutarotation" durch die Annahme der Existenz stereoisomerer Dextrosen erklärt ($\alpha$-, $\beta$- und $\gamma$-Form)[1]. Die englischen Autoren haben die Vermutung ausgesprochen, daß im Blute des gesunden Menschen die $\gamma$-Modifikation des Zuckers vorkommt. Beim Diabetiker soll dagegen die $\alpha$-$\beta$-Form der Glucose vorliegen. Die normalerweise stattfindende Umwandlung der $\alpha$-$\beta$ in die $\gamma$-Form soll beim Diabetiker ausbleiben oder gestört sein, und darin soll das Wesen des Diabetes bestehen. Insulininjektion soll eine Änderung im Verhalten des Blutzuckers des Diabetikers hervorrufen, der Blutzucker soll nun normal werden.

Die Annahme eines Überganges des $\alpha$-$\beta$-Zuckers in die $\gamma$-Form machten *Winter* und *Smith* auf Grund von früheren Versuchen von *Hewitt* und *Pryde*[2]. *Hewitt* und *Pryde* fanden, daß die $\alpha$-$\beta$-Glucose im Darm sehr rasch eine Abnahme der optischen Drehung erfährt, wahrscheinlich infolge einer Bildung von $\gamma$-Glucose. Die Auffassung des normalen Blutzuckers als eine $\gamma$-Glucose hat vielfachen Widerspruch erhoben[3]. Auch *Winter* und *Smith* haben diese Ansicht verlassen[4]. Der Kernpunkt der ganzen Frage besteht aber nicht nur darin, ob im Blute die $\gamma$-Form auftritt oder nicht. Sehr wesentlich ist die Entscheidung, ob die optischen Veränderungen des Blutzuckers durch die Annahme der verschiedenen reaktiven Formen der Blutdextrose erklärt werden können und ob tatsächlich im Blute des Diabetikers eine andere Zuckerform als beim gesunden Menschen gefunden wird. Über das Verhalten des Blutzuckers des Diabetikers liegen widersprechende Äußerungen vor. *MacLeod*[5] gibt übereinstimmend mit *Winter* und *Smith* an, daß durch das Insulin eine Änderung des optischen Verhaltens des Blutzuckers des Diabetikers hervorgerufen wird. *Thannhauser*[6] fand keinen Unterschied zwischen dem Blutzucker des gesunden

[1] Vgl. die neueren Untersuchungen von *B. Bleyer* und *H. Schmidt*, diese Zeitschr. 1923.

[2] *Hewitt* und *Pryde*, Biochem. Journ. **14**, 1920.

[3] *Dieselben*, British Medic. Journ. 1923, S. 590.

[4] *Winter* und *Smith*, ebendaselbst 1923, 26. Mai.

[5] *MacLeod*, Lancet **205**, Nr. 4.

[6] *Thannhauser*, Münch. med. Wochenschr. 1924, S. 196.

und des an Diabetes erkrankten Menschen. Da uns kein Blut von Diabetikern zur Verfügung stand, so können wir über die Drehung des Blutzuckers beim Diabetes nichts aussagen. In zahlreichen Versuchen haben wir aber feststellen können, daß die optische Drehung des Blutzuckers des *normalen* Tieres tatsächlich mit der Zeit zunimmt. Wir können also diesen Teil der Befunde von *Winter* und *Smith* bestätigen. Wir haben allerdings gefunden, daß mit dem Erreichen des Reduktionswertes die Änderung der optischen Aktivität des Blutzuckers keineswegs abgeschlossen ist. Die Anfangsdrehung, die normalerweise unter dem Reduktionswert liegt, kann nach mehreren Tagen denselben überschreiten. Auch das Gegenteil haben wir gesehen (vgl. Versuche mit Adrenalin weiter unten). *Winter* und *Smith* machen darüber keine Angaben. Ob die auftretenden Veränderungen im optischen Verhalten des Blutzuckers ausschließlich auf einer Verschiebung des Gleichgewichtszustandes zwischen der $\alpha$- und $\beta$-Glucose beruht, oder ob dabei noch andere Faktoren mitspielen, möchten wir vorläufig noch unentschieden lassen. Wir wollen darauf hinweisen, daß die Blutzuckeruntersuchung nach *Winter* und *Smith* in einer Lösung erfolgt, die reichlich Wolframsäure enthält. Es ist seit langem bekannt, daß Traubenzucker mit Boraten, Molybdaten, Wolframaten und mit einer sehr großen Reihe anderer Stoffe bis jetzt noch unbekannte Verbindungen ergibt, welche die optische Aktivität sehr stark beeinflussen. Ob auch in vorliegendem Fall Wolframsäure-Zuckerverbindungen vorliegen, muß noch speziell untersucht werden. Ferner erhält man beim Eindampfen des enteiweißten Blutfiltrates eine ziemlich stark saure Reaktion, welche ebenfalls die Drehung des Zuckers beeinflussen kann. *Unsere Aufgabe* bestand aber nicht darin, das *Wesen* der Drehungsänderungen genauer zu erforschen, sondern *zu prüfen, ob die Annahme verschiedener Modifikationen des Blutzuckers zur Erklärung des Verhaltens des Stoffwechsels nach manchen experimentellen Eingriffen beitragen kann.* In einer früheren Arbeit[1]) wurde darauf hingewiesen, daß ein Glykogenschwund aus der Leber keinesfalls immer von einer vermehrten Zuckerverbrennung begleitet ist. Nach Zufuhr von Schilddrüsenstoffen, von Adrenalin, von Pilocarpin usw. wird die Leber beinahe vollständig glykogenfrei. Die Verfolgung des Gaswechsels ergibt aber keine Erhöhung des Respirationsquotienten[1]). Diese Erscheinung tritt besonders deutlich beim *Adrenalin* hervor[1]), dessen Wirkung auf die Glykogenmobilisierung und auf die Hyperglykämie außer jedem Zweifel ist. Es wäre wohl denkbar, daß unter dem Einfluß von Schilddrüsenstoffen, von Adrenalin, von Pilocarpin usw. die Natur des Blutzuckers modifiziert wird

[1]) *J. Abelin*, diese Zeitschr. **129**, 6 und 14, 1922.

und daß der qualitativ veränderte Blutzucker sich im Stoffwechsel anders verhält als der normale. Wir haben daher eine Untersuchung der optischen Drehung und der Reduktionskraft des Blutzuckers vor und nach der Eingabe von Thyreoidea, von Adrenalin, von Pilocarpin, von Cholin u. a. m. unternommen. Auch die Natur des Harnzuckers wird geprüft. In dieser Mitteilung wollen wir uns mit dem Verhalten der Schilddrüsenstoffe und des Adrenalins befassen. Die Untersuchung der großen Anzahl noch anderer in Betracht kommender Substanzen ist im Gange.

Wir haben bis jetzt gefunden, daß die Darreichung selbst großer Mengen von sehr wirksamen Schilddrüsenpräparaten keine Änderung der optischen Eigenschaften des Blutzuckers zur Folge hat. Dagegen haben wir nach Injektion von Adrenalin eine wesentliche Änderung des Blutzuckers gesehen. Ebenso wie in vielen Fällen von Diabetes findet man *nach Adrenalininjektion* beim Kaninchen, daß nunmehr *der Polarisationswert* des Blutzuckers den *Reduktionswert* von Anfang an *übersteigt*. Beim Stehen dieser Blutzuckerlösung tritt eine *Abschwächung der Drehung* ein, während der normale Blutzucker, wie erwähnt, umgekehrt mit der Zeit eine Zunahme der optischen Drehung erfährt. Es liegen demnach Anhaltspunkte dafür vor, daß unter dem Einfluß von Adrenalin nicht nur *quantitative*, sondern auch *qualitative* Änderungen des Blutzuckers auftreten. Die neu auftretende Blutzuckerform bleibt nicht dauernd, sie ist am sichersten ebenso wie die anderen Adrenalinwirkungen in den ersten Stunden nach der Injektion zu finden. Nach einiger Zeit verhält sich der Blutzucker wieder normal (vgl. weiter unten). Wir möchten bemerken, daß wir bei der Zusammenstellung der Arbeit auf eine Notiz über einen Vortrag von *Winter* und *Smith* aufmerksam wurden[1]). Es wird hier angegeben, daß durch Adrenalin das Verhältnis vom Reduktionswert zum Polarisationswert zugunsten des letzteren verschoben wird. Eine ausführliche Veröffentlichung von *Winter* und *Smith* über diese Frage haben wir nicht finden können. Es scheint uns aber eine Übereinstimmung der beiderseitigen Befunde vorzuliegen.

Der Ausfall der Adrenalinversuche ist noch in folgender Hinsicht von Interesse. Eine Änderung der Beschaffenheit des Blutzuckers muß für den gesamten Organismus die größten Folgen haben. Es wird in der Zukunft diese Seite der Adrenalinwirkung weitgehend berücksichtigt werden müssen, und es muß noch studiert werden, inwiefern diese Blutzuckerveränderungen zur Erklärung der Adrenalinwirkung herangezogen werden können. Ferner hätten wir hier den interessanten Fall, wo durch einen physiologischen Stoff, wie das Adre-

[1]) *Winter* und *Smith*, Journ. of Physiol. 57, 53 (Abt. Vortr.).

nalin, die Natur *einer chemischen Substanz* verändert wird, während wir sonst die Beeinflussung der *Organfunktion* in den Vordergrund stellen. Letzten Endes würde wahrscheinlich auch der Blutzuckerveränderung eine geänderte Zellfunktion zugrunde liegen. Wir wären aber bei dieser Adrenalinwirkung in der Lage, die veränderte Zelltätigkeit an Hand eines physikalisch-chemischen Vorganges in einem physiologisch höchst wichtigen Stoff, wie dem Blutzucker, genauer verfolgen zu können.

Es wäre noch von Interesse zu ermitteln, welche Veränderungen des Blutzuckers das Adrenalin *beim Diabetiker* hervorruft. Die Frage ist aus dem Grunde von gewisser Bedeutung, weil die Hypoglykämie nach Insulin durch Adrenalininjektion bekämpft werden kann. Nun wirken aber Insulin und Adrenalin entgegengesetzt auf den Blutzucker. Insulin setzt die erhöhte Drehung des Diabetikerblutzuckers herab (*Winter* und *Smith*, *MacLeod*). Adrenalin dagegen ruft beim *normalen* Tier ähnliche Blutzuckerveränderungen wie der Diabetes hervor. Es liegt also ein gewisser Widerspruch vor, der vielleicht durch die Verfolgung der Adrenalinwirkung auf den Blutzucker des Diabetikers aufgeklärt werden könnte.

Die *Methodik* der Versuche erfordert eine sehr große Sorgfalt. Sie bezweckt nicht die quantitative Bestimmung des Blutzuckers. Das Hauptaugenmerk ist in erster Linie darauf gerichtet, die chemischen und die physikalischen Operationen möglichst wenig eingreifend zu gestalten und den Blutzucker in möglichst unveränderter Form zu isolieren. Darin unterscheidet sich die vorliegende Technik von vielen anderen Verfahren. Wir vermuten, daß manche Nichtbestätigung der Angaben von *Winter* und *Smith* auf einer ungenügenden Beachtung der Versuchsbedingungen zurückzuführen ist. Auf Grund eigener Erfahrung möchten wir empfehlen, bei mißglückten Versuchen die Sache nicht frühzeitig aufzugeben. In solchen Fällen soll man zuerst an Versuchsfehler denken. Auf die große Bedeutung der Methodik für das Gelingen der Versuche haben die englischen Autoren mehrfach hingewiesen.

Der Verlauf des Versuchs ist folgender: Oxalatplasma wird nach *Folin* und *Wu* enteiweißt [1]).

Das Filtrat wird bei niederer Temperatur eingedampft. *Winter* und *Smith* empfehlen die Vakuumdestillation bei 40°. In unseren Versuchen hat sich das Verjagen des Wassers mit Hilfe des sogenannten Föhnapparates besser bewährt. Der Verdampfungsrückstand wird mit warmem 85proz. Alkohol übergossen, 15 Minuten lang bei 40° stehengelassen, abfiltriert. Die Behandlung mit warmem 85proz. Alkohol wird nochmals wiederholt. Die beiden Alkoholfiltrate, die nun den aller-

[1]) Über Versuche mit anderen Enteiweißungsmethoden wollen wir später berichten.

größten Teil oder vielleicht die gesamte Glykose enthalten, werden vereinigt, bei niederer Temperatur (höchstens 40°) eingedampft, der Rückstand wird in einer bekannten Menge Wasser gelöst und filtriert. In den nachfolgenden Protokollen wird diese Lösung als „*Endfiltrat*" bezeichnet. Ein Teil der Zuckerlösung diente zur Polarisation, in einem anderen Teil wurde die Glucose quantitativ nach *Bertrand* bestimmt. Die Lösung für die Polarisation war wasserhell. Die Zuckerlösung wurde jeden Tag vor der Polarisation erneut filtriert. Das Polarisationsrohr sowie die anderen benutzten Gefäße müssen absolut rein sein, um Infektion zu vermeiden. Am besten benutzt man sterilisierte Gefäße. Die Temperatur der Zuckerlösung soll bei allen Polarisationsbestimmungen die gleiche sein. Große Temperaturschwankungen können erhebliche Fehler verursachen. Wir verwendeten einen Halbschattenapparat von *Schmidt* und *Haensch.* Alle Bestimmungen wurden in einem 1-dm-Rohr ausgeführt. Zur Beleuchtung diente eine gelbe NaCl-Flamme. Die Größe der Flamme soll bei allen Versuchen möglichst gleich bleiben. Im übrigen haben wir uns an die Angaben von *Winter* und *Smith* gehalten, auf die wir ausdrücklich verweisen. Vom Momente der Blutentnahme bis zur Ausführung der Polarisation und der Reduktionsanalyse vergingen gewöhnlich 4 bis 6 Stunden, je nach der Menge des verarbeiteten Blutes. Die Ablesungen am Polarisationsapparat wurden sehr gut eingeübt. Es wurden immer fünf Ablesungen vor und fünf Ablesungen nach dem Einlegen des Polarisationsrohres gemacht. Gewöhnlich stimmten diese Ablesungen sehr gut untereinander. Es mögen vcrerst einige Kontrollanalysen mit Traubenzuckerlösungen angeführt werden.

*Tabelle I.* Lösungen von d-Glucose.

| Datum | Polarimetrische Bestimmung Proz. | Analyse nach *Bertrand* Proz. | Differenz |
|---|---|---|---|
| 11. X. 1923 | 0,215 | 0,211 | + polarim. 0,004 Proz. |
| 19. X. | 0,114 | 0,108 | + „ 0,006 „ |
| 20. X. | 0,106 | 0,1055 | + „ 0,0005 „ |
| 21. X. | 0,106 | 0,1055 | + „ 0,0005 „ |
| 23. X. | 0,042 | 0,050 | + *Bertrand* 0,008 „ |
| 25. X. | 0,097 | 0,101 | + „ 0,004 „ |
| 27. X. | 0,112 | 0,103 | + polarim. 0,009 „ |
| 5. XI. | 0,094 | 0,103 | + *Bertrand* 0,009 „ |
| 16. XI. | 0,202 | 0,206 | + „ 0,004 „ |

Die Tabelle I zeigt die gute Übereinstimmung der Polarisationszahlen mit den Reduktionswerten bei Traubenzuckerlösungen. Der Fehler beträgt nur tausendstel Proz. Solche Kontrollbestimmungen wurden während der ganzen Arbeit ausgeführt. Diese Analysen beweisen zugleich, daß die bei den Blutzuckerlösungen beobachteten Differenzen zwischen der Polarisation und der Reduktion nicht auf Versuchsfehlern beruhen können.

## I. Blutzuckerbestimmungen nach Schilddrüsenfütterung.

### *A. Versuche am Hammel.*

Zu den nachfolgenden Versuchen diente ein Hammel. Der Blutentzug erfolgte immer morgens, 15 bis 18 Stunden nach der letzten Fütterung des Tieres. Aus der vena jugularis wurden 50 bis 75 ccm Blut steril entnommen, über Natriumoxalat aufgefangen, sofort nach *Folin* und *Wu* enteiweißt und wie oben angegeben weiter verarbeitet.

*Vor* der Schilddrüseneingabe wurden folgende Resultate erhalten:

10. Dezember 1923. Blut 50 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 10. XII. | 11. XII. | 12. XII. |
|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . . . . . . | 0,064 | 0,072 | 0,06 |
| *Bertrand* in Proz. . . . . . . . . . | 0,063 | — | 0,063 |

12. Dezember. Blut 60 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 12. XII. | 13. XII. | 14. XII. |
|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . . . . . . | 0,06 | 0,068 | 0,056 |
| *Bertrand* in Proz. . . . . . . . . . | 0,063 | — | 0,066 |

14. Dezember. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 14. XII. | 15. XII. | 16. XII. | 17. XII. | 18. XII. | 19. XII. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,084 | 0,080 | 0,08 | 0,104 | 0,120 | 0,12 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,074 | — | — | — | — | 0,078 |

17. Dezember. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 17. XII. | 18. XII. | 19. XII. | 20. XII. | 21. XII. |
|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,068 | 0,072 | 0,072 | 0,100 | 0,12 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,063 | — | — | — | 0,068 |

Am 17. Dezember wurde mit der Verfütterung der Schilddrüsentabletten begonnen. Benutzt wurden die „Thyroid Gland Burroughs Wellcome“. Jede Tablette enthielt 0,32 g Thyroidea. Die Tabletten wurden zerkleinert, mit Hafer und etwas Kochsalz vermengt und dem Tier gereicht. Das Präparat wurde vom Tier immer gern genommen. Am 17. Dezember erhielt der Hammel vier und am 18. Dezember fünf Tabletten. Am 19. Dezember wurde eine Blutanalyse ausgeführt.

19. Dezember. Blut 37,5 ccm. Endfiltrat 12,5 ccm.

| | 19. XII. | 20. XII. | 21. XII. | 22. XII. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,08 | 0,08 | 0,10 | 0,12 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | — | — | — | 0,068 |

Am 19. und 20. Dezember erhält das Tier je fünf Thyreoideatabletten.

19. Dezember. Blut 37,5 ccm. Endfiltrat 12,5 ccm.

| | 19. XII. | 20. XII. | 21. XII. | 22. XII. | 23. XII. |
|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,08 | 0,08 | 0,10 | 0,13 | 0,10 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | — | — | — | — | 0,068 |

Am 21. Dezember erhält das Tier wiederum fünf Tabletten.

21. Dezember. Blut 37,5 ccm. Endfiltrat 20 ccm.

| | 21. XII. | 22. XII. | 23. XII. | 24. XII. | 25. XII. | 26. XII. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,06 | 0,086 | 0,10 | 0,10 | 0,06 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | — | — | — | — | — | 0,058 |

Am 22. und 23. Dezember erhält das Tier je sieben Tabletten.

24. Dezember. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 24. XII. | 25. XII. | 26. XII. | 27. XII. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . . . . . | 0,072 | 0,08 | 0,12 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . . . . . . | 0,073 | — | — | 0,073 |

Am 24. Dezember werden keine Schilddrüsentabletten gegeben, am 25., 26. und 27. Dezember werden je acht Tabletten verfüttert.

27. Dezember. Blut 37,5 ccm. Endfiltrat 15 ccm.

| | 27. XII. | 28. XII. | 29. XII. | 30. XII. | 31. XII. | 1. I. | 2. I. | 3. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. | 0,06 | 0,08 | 0,09 | 0,10 | 0,10 | 0,04 | 0,05 | 0,05 |
| *Bertrand* in Proz. . | — | — | — | — | — | — | — | 0,084 |

Am 28., 29., 30. und 31. Dezember werden keine Schilddrüsentabletten gegeben.

28. Dezember. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 28. XII. | 29. XII. | 30. XII. | 31. XII. | 1. I. | 2. I. | 3. I. | 4. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. | 0,07 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,08 | 0,08 | 0,09 | 0,04 (?) |
| *Bertrand* in Proz. . | 0,089 | — | — | — | — | — | — | 0,089 |

Am 1. und 2. Januar 1924 erhält das Tier je acht Tabletten, am 3., 4., 5. keine Tabletten. Am 6. Januar wiederum acht Tabletten.

4. Januar. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 4. I. | 5. I. | 6. I. | 7. I. | 8. I. | 9. I. | 10. I. | 11. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. | 0,09 | 0,10 | 0,09 | 0,11 | 0,09 | 0,10 | 0,073 | 0,072 |
| *Bertrand* in Proz. . | 0,084 | — | — | — | — | — | — | — |

7. Januar. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 7. I. | 8. I. | 9. I. | 10. I. | 11. I. | 12. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,064 | 0,08 | 0,084 | 0,10 | 0,10 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,084 | — | — | — | — | 0,089 |

Am 6. Januar erhielt das Tier zum letzten Male Schilddrüsentabletten, es wurden aber noch weitere Analysen bis zum 14. Januar ausgeführt.

9. Januar. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 9. I. | 10. I. | 11. I. | 12. I. | 13. I. | 14. I. | 15. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . | 0,076 | 0,088 | 0,104 | 0,10 | 0,084 | 0,08 | 0,08 |
| *Bertrand* in Proz. . . . . | 0,089 | — | — | — | — | — | 0,089 |

12. Januar. Blut 75 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 12. I. | 13. I. | 14. I. | 15. I. | 16. I. | 17. I. | 18. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . | 0,08 | 0,10 | 0,10 | 0,112 | 0,108 | 0,08 | 0,08 |
| *Bertrand* in Proz. . . . . | 0,094 | — | — | — | — | — | 0,094 |

14. Januar. Blut 75 ccm., Endfiltrat 25 ccm.

| | 15. I. | 16. I. | 17. I. | 18. I. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,064 | 0,074 | 0,088 | 0,088 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,089 | — | — | 0,089 |

Die mitgeteilten Versuche zeigen, daß unter dem Einfluß recht erheblicher Thyroideamengen (insgesamt 28 g) keine Änderung in dem Verhalten des Blutzuckers eintritt. Sowohl vor als auch nach der Schilddrüsenverfütterung finden wir die Zunahme der optischen Drehung in den ersten Tagen, wobei der Polarisationswert recht erhebliche Unterschiede gegenüber dem Reduktionswert aufweist. Der Polarisationswert ist anfangs meist kleiner als der Reduktionswert. Nach Erreichen eines Maximums nimmt dann häufig die Drehung allmählich ab. Die Reduktionswerte bleiben durchweg beim Stehen der Blutzuckerlösung unbeeinflußt. Gerade diese Tatsache spricht dafür, daß die später auftretende Abnahme der optischen Aktivität nicht auf einer bakteriellen Zuckerzersetzung beruhen kann, sondern, daß wahrscheinlich fortwährend Gleichgewichtsverschiebungen stattfinden, bald in der einen, bald in der anderen Richtung. Erwähnenswert sind die Versuche von 19. Dezember. An diesem Tag wurden nicht 75 ccm Blut auf einmal, sondern zwei Blutportionen zu je 37,5 ccm genommen. Jede Blutprobe wurde für sich analysiert. Man findet in beiden Fällen eine Übereinstimmung der Analysenwerte, sowohl was die Anfangszahlen als auch was ihre Änderung betrifft.

### B. *Versuche am Kaninchen.*

Es wurden noch einige Versuche am Kaninchen angestellt, um erstens auch das Verhalten dieses Tieres gegenüber der Schilddrüsenzufuhr zu studieren. Zweitens sollte in diesen Versuchen der Blutzucker *kurze Zeit nach der Thyreoideaeingabe* analysiert werden. Es mußte noch die Frage geprüft werden, ob nicht in den ersten Stunden nach der Schilddrüsenverfütterung, also auf der Höhe der Resorption eine Änderung in der Natur des Blutzuckers auftritt. In den nachfolgenden Versuchen wurde das Blut 3 und 6 bis 7 Stunden nach Zufuhr von Schilddrüse entnommen und sofort weiter verarbeitet. Auch hier wurde das Thyreoideapräparat von *Burroughs Wellcome* verwendet. Die Eingabe erfolgte per os mit Hilfe eines Gummikatheters. Zu den Blutzuckeranalysen wurden seit 18 Stunden hungernde Tiere verwendet.

24. Januar 1924. Kaninchen. 2 Tabloid Thyroid Gland à 0,321 g per os. Nach 2 *Stunden* werden aus der Ohrvene 20 ccm Blut abgezapft.

Endfiltrat 25 ccm.

| | 24. I. | 25. I. | 26. I. | 27. I. | 28. I. |
|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,01 | 0,04 | 0,08 | 0,05 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,048 | — | — | — | 0,048 |

*6 Stunden* nach der Schilddrüseneingabe.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 25. I. | 26. I. | 28. I. |
|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . . . . . | 0,05 | 0,06 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . . . . . | 0,058 | — | 0,058 |

31. Januar. Ein Kaninchen erhält zwei Schilddrüsentabletten per os. Blutuntersuchung *3 Stunden* nach der Eingabe.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 31. I. | 1. II. | 2. II. | 4. II. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,04 | 0,05 | 0,044 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,048 | — | — | 0,048 |

Blutuntersuchung *7 Stunden* nach der Schilddrüseneingabe.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

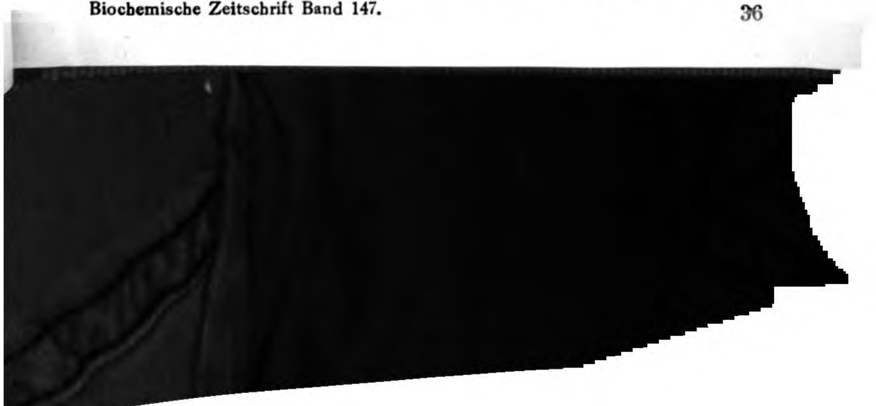
| | 1. II. | 2. II. | 4. II. | 5. II. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,044 | 0,05 | 0,06 | 0,04 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,058 | — | — | 0,058 |

Man findet auch in diesen Versuchen das *normale Verhalten* des Blutzuckers. Auch hier nimmt die Polarisation allmählich zu, die Reduktion bleibt unverändert. Die absoluten Zahlen sind hier geringer, weil man vom Kaninchen nicht gut größere Blutmengen auf einmal entnehmen kann. Man mußte sich mit Proben von 20 ccm Blut begnügen.

## II. Versuche mit Adrenalin.

Es sollen noch einige Versuche mit Adrenalin angeführt werden, die allerdings nur einen orientierenden Charakter haben. Es soll die Adrenalinwirkung in einer anderen Mitteilung ausführlich behandelt werden. Aber selbst die wenigen hier angeführten Versuche zeigen deutlich die Beeinflussung des Blutzuckers durch das Adrenalin. Abgesehen von der Hyperglykämie, die eine bekannte Adrenalinwirkung darstellt, finden wir in den nachfolgenden Versuchen, daß die Polarisationswerte des Blutzuckers mit der Zeit *geringer* werden (während sie normalerweise und nach Schilddrüsenzufuhr *größer* werden). Die Polarisationszahlen *übersteigen meist* von Anfang an die Reduktionszahlen (während normalerweise das Umgekehrte der Fall ist). Das Kaninchenblut nach Adrenalininjektion verhält sich somit wie das Blut beim Diabetes, welches nach den Untersuchungen von *Winter* und *Smith* ebenfalls einen höheren Polarisations- als Reduktionswert haben soll. Auch das Diabetikerblut zeigt beim Aufbewahren eine Abnahme des Drehungsgrades. Sämtliche Blutzuckeruntersuchungen wurden 18 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme ausgeführt.





25. Januar. Kaninchen, grau, erhält eine subkutane Injektion von 1 ccm Adrenalin (1: 1000). *1 Stunde* nach der Injektion wird das Blut untersucht.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 25. I. | 26. I. | 27. I. | 28. I. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,12 | 0,096 | 0,086 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,11 | — | — | 0,11 |

Blut *3 Stunden* nach der Adrenalininjektion.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 25. I. | 26. I. | 27. I. | 28. I. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,148 | 0,134 | 0,120 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,131 | — | — | 0,131 |

21. Januar. Kaninchen, weißschwarz, 1 ccm Adrenalin (1 : 1000) subkutan. Blutentnahme *1 Stunde* nach der Injektion.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 21. I. | 22. I. | 23. I. | 24. I. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,10 | 0,098 | 0,10 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,11 | — | — | 0,11 |

*3 Stunden* nach der Adrenalininjektion zeigt sich die Blutzuckerveränderung deutlicher.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 21. I. | 22. I. | 23. I. | 24. I. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,13 | 0,124 | 0,120 | 0,064 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,13 | — | — | — |

Der Polarisationswert stimmt hier von Anfang an mit dem Reduktionswert überein, in den nachfolgenden Tagen tritt eine allmähliche Abnahme der optischen Drehung ein.

28. Januar. Weißschwarzes Kaninchen. 1 ccm Adrenalin (1: 1000) subkutan. *1 Stunde* nach der Injektion.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 28. I. | 29. I. | 30. I. | 31. I. | 1. II. |
|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,184 | 0,140 | 0,120 | 0,092 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,146 | — | — | — | 0,141 |

*3 Stunden* nach der Adrenalininjektion.

Blut 20 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 28. I. | 29. I. | 30. I. | 31. I. |
|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,23 | 0,20 | 0,16 | 0,15 |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,182 | — | — | 0,172 |

Bleibt die durch das Adrenalin hervorgerufene Veränderung des optischen Verhaltens des Blutzuckers längere Zeit bestehen oder geht sie schnell vorbei? Zur Beantwortung dieser Frage wurde 5 Tage nach einer Adrenalininjektion der Blutzucker wieder untersucht. Es wurde wieder ein normales Verhalten des Blutzuckers festgestellt, d. h. die Polarisation war anfangs schwächer als die Reduktion und nahm mit den Tagen zu.

30. Januar. Kaninchen, grau, Adrenalininjektion am 25. Januar (vgl. oben).

Blut 40 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 30. I. | 31. I. | 1. II. | 2. II. | 4. II. |
|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . | 0,084 | 0,120 | 0,130 | 0,108 | — |
| *Bertrand* in Proz. . . . | 0,130 | — | — | — | 0,130 |

Es soll noch der Vollständigkeit halber ein Versuch angeführt werden, bei welchem die Blutzuckerveränderungen zwar angedeutet, aber nicht sehr ausgesprochen waren. Es handelt sich um eine Voruntersuchung, die 1 Stunde nach der Adrenalininjektion ausgeführt wurde. Es scheint, daß diese Zeit etwas zu kurz ist, um ein typisches Bild einer Blutzuckerveränderung hervorzurufen. In den nachfolgenden Versuchen wurde daher auch 3 Stunden nach der Adrenalininjektion das Blut untersucht. Außerdem war die Adrenalinlösung dunkelbraun und zum Teil zersetzt. Bei den anderen Versuchen wurden einwandfreie Adrenalinlösungen verwendet.

17. Januar. Kaninchen erhält 1 ccm Adrenalin (1 : 1000) subkutan (Lösung braun). Bluntersuchung *1 Stunde* nach der Injektion.

Blut 37,5 ccm. Endfiltrat 25 ccm.

| | 17. I. | 18. I. | 19. I. | 20. I. | 21. I. | 22. I. | 23. I. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polarisation in Proz. . . | 0,18 | 0,192 | 0,170 | 0,196 | 0,190 | 0,14 | 0,10 |
| *Bertrand* in Proz. . . . . | 0,203 | — | — | — | — | — | — |

**Zusammenfassung.**

Bei früher durchgeführten Stoffwechselversuchen wurde die Beobachtung gemacht, daß ein Glykogenschwund aus der Leber und eine Hyperglykämie nicht immer von einer erhöhten Kohlehydratverbrennung begleitet sind. Nach Verfütterung von Schilddrüse wird z. B. die Leber beinahe vollständig glykogenfrei, im Gaswechselversuch läßt sich aber keine Erhöhung des Respirationsquotienten feststellen. Auch nach Adrenalininjektion findet man beim Tier trotz Glykogenmobilisation, Hyperglykämie und Steigerung des Gaswechsels entweder keine oder nur eine sehr unbedeutende Zunahme der Zuckeroxydation. Es wurde nun experimentell die Frage geprüft, ob die nicht vermehrte Zuckerverbrennung auf einer Änderung der Natur des Blutzuckers beruhen könnte. Die Blutzuckeruntersuchungen nach der Methode von *Winter* und *Smith* ergaben folgendes:





1. Die Angabe von *Winter* und *Smith*, daß beim normalen Tier der Polarisationswert des Blutzuckers unter dessen Reduktionswert liegt und daß mit der Zeit der Polarisationswert zunimmt, konnte bestätigt werden. Ob aber diese Erscheinung auf einer Verschiebung eines Gleichgewichtszustandes zwischen $\alpha$- und $\beta$-Glucose, auf der Bildung eines Komplexes oder eines Glucosids und dergleichen beruht, möchten wir vorläufig unentschieden lassen. Jedenfalls betrachten wir das Studium dieser Blutzuckerveränderungen, die auf qualitative Unterschiede hindeuten, als ein brauchbares Hilfsmittel für die weitere Erforschung des Kohlehydratstoffwechsels.

2. Darreichung von Schilddrüsenstoffen ruft beim Tier keine Veränderung im Verhalten des Blutzuckers hervor. *Vor* und *nach* der Thyreoideaeinnahme findet man, wie gewöhnlich, daß der Polarisationswert der frisch hergestellten Blutzuckerlösung geringer ist als deren Reduktionswert. *Mit der Zeit nimmt der Polarisationswert zu.*

3. Adrenalininjektion verursacht neben der Hyperglykämie auch eine Änderung der optischen Eigenschaften des Blutzuckers. Der Polarisationswert wird *höher* als der Reduktionswert gefunden. *Er nimmt beim Stehen ab.* Nach Angabe einiger Autoren soll sich häufig der Blutzucker des Diabetikers ähnlich verhalten. Auch beim Diabetiker soll der anfängliche Polarisationswert oft zu hoch sein; die Größe der Rechtsdrehung soll allmählich zurückgehen, während die Reduktionskraft unverändert bleibt.

Adrenalininjektion und eine Diabeteserkrankung würden demnach verwandte Änderungen des Blutzuckers hervorrufen können.

4. Die durch das Adrenalin bedingte Änderung im Verhalten des Blutzuckers geht nach einer gewissen Zeit zurück. Einige Tage nach der Adrenalininjektion wurde wieder ein normales Verhalten des Blutzuckers gefunden, d. h. der Polarisationswert war wie sonst kleiner als der Reduktionswert und nahm allmählich zu.

Bei der Theorie der Adrenalinwirkung muß der Einfluß des Adrenalins auf den Blutzucker berücksichtigt werden, da eine eventuelle Änderung der Struktur des Blutzuckers die größten Folgen für die chemischen Vorgänge in den Zellen des gesamten Organismus haben kann.

# Über Hämolyse in hypertonischen Salzlösungen und ihr Mechanismus.

Von

**D. Acél** und **L. Lorber.**

(Aus dem Zentrallaboratorium der Krankenhäuser der jüdischen Gemeinde in Budapest.)

*(Eingegangen am 25. März 1924.)*

Während anderweitiger Untersuchungen mit stark hypertonischen Salzlösungen sahen wir, daß die in den Salzlösungen suspendierten roten Blutkörperchen sich auflösten. Daß in hypertonischen Salzlösungen Hämolyse stattfindet, wurde schon von anderen Autoren [*Hamburger*[1]), *Bechhold*[2])] beschrieben. Sie erklärten dies durch das in den hypertonischen Salzlösungen infolge der Steigerung des Osmosedruckes auftretende Schrumpfen der roten Blutkörperchen. Die Beschädigung derselben verursacht das Austreten des Hämoglobins.

Wir sahen Hämolyse zuerst in einer 30 proz. NaCl-Lösung. Wir hielten es für lohnend zu untersuchen, ob auch verschiedene Salze in stark hypertonischer Lösung diese hämolytische Eigenschaft besitzen und falls ja, ob zwischen den verschiedenen hypertonischen Salzlösungen eine Gesetzmäßigkeit bestehe und was der Mechanismus dieser Hämolyse sei.

## I.

Im Laufe unserer Versuche gaben wir anfangs zu gleich konzentrierten hypertonischen Lösungen verschiedener Salze rote Blutkörperchen und bestimmten den Prozentsatz der hämolysierten roten Blutkörperchen.

Zu unseren Versuchen benutzten wir mittels Venäpunktion gewonnenes Menschenblut, welches wir in einem Glasperlen enthaltenden Gefäß auffingen.

---

1) Osmotische Druck- und Ionenlehre. Wiesbaden 1902.
2) Kolloide in Biologie und Medizin 1919, 2. Aufl.



Das Blut wurde defibriniert, zentrifugiert, das Serum abgegossen, die roten Blutkörperchen mit 0,9proz. NaCl-Lösung dreimal gewaschen. Nach dem dritten Waschen bzw. Zentrifugieren gossen wir die Waschflüssigkeit ab und benutzten zu unseren weiteren Untersuchungen die abzentrifugierte, dichte Blutkörperchensuspension. (Zur Kontrolle benutzten wir zu den folgenden Untersuchungen auch ungewaschene rote Blutkörperchen und gelangten auch damit zu vollkommen gleichen Resultaten.)

3 × 3 ccm der verschiedenen Salzlösungen wurden in dickwandigen sogenannten Wassermannröhrchen gemessen und 2 × 2 Tropfen Blutkörperchensuspension hinzugefügt. Nach schwachem Aufschütteln ließen wir die Röhrchen für 5 Minuten bei Zimmertemperatur stehen und zentrifugierten dann stark ab. Nach dem Zentrifugieren blieben die gegen die hypertonischen Salzlösungen resistenten roten Blutkörperchen am Grunde des Röhrchens, während die nichtresistenten roten Blutkörperchen sich lösten und die Salzlösungen gemäß ihrer Menge stärker oder schwächer rot färbten.

Der Prozentsatz der resistenten und nichtresistenten roten Blutkörperchen wurde mittels des *v. Liebermann*schen[1]) kolorimetrischen Verfahrens bestimmt. Zur Bestimmung benutzten wir zwei Eprouvetten von gleichem Durchmesser. In die eine ($H$) gossen wir die über dem Zentrifugatum befindliche Flüssigkeit. Das Zentrifugatum, das sind die resistenten roten Blutkörperchen, wurde in 3 ccm destilliertem Wasser gelöst und die Lösung in die andere ($R$) Eprouvette gegossen. Nachher ließen wir aus einer Bürette so lange destilliertes Wasser in die die dunklere rote Flüssigkeit enthaltende Eprouvette tropfen, bis deren Inhalt die gleiche Färbung zeigte wie der Inhalt der anderen Eprouvette. Aus der zur dunkleren Flüssigkeit hinzugefügten Menge des destillierten Wassers ließ sich der Prozentsatz der hämolysierten — nichtresistenten — roten Blutkörperchen bestimmen.

Die Resultate unserer Versuche lassen sich aus folgender Tabelle ersehen:

| Salzlösungen | Wieviel Prozente der roten Blutkörperchen lösten sich in | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 | 40 | 45 | 50 proz. |
| | Lösungen | | | | | | | |
| NaCl | Sp*) | 4 | — | 72 | — | — | — | — |
| $NaNO_3$ | θ**) | θ | θ | 7 | 56 | — | 100 | — |
| NaBr | Sp | Sp | — | 56 | — | — | 100 | — |
| Na Citrat | θ | θ | θ | θ | θ | θ | θ | θ |
| KCl | θ | Sp | — | 50 | — | — | — | — |
| KSCN | 6 | 25 | — | 100 | — | — | — | — |
| KBr | Sp | Sp | — | 31 | — | — | — | 100 |
| KJ | Sp | Sp | — | 21 | — | 81 | — | — |
| $(H_4N)_2SO_4$ | θ | θ | θ | θ | θ | θ | θ | θ |
| $ZnSO_4$ | θ | θ | θ | — | θ | — | — | θ |
| $CaCl_2$ | θ | 6 | — | 90 | — | — | — | — |
| $AlCl_3$ | Lösung und Ausfällung | | | | | | | |
| LiCl | — | 25 | 68 | — | — | — | — | — |

*) Sp = Spuren von Lösung. **) θ = keine Lösung.

[1]) Biol. Centralbl. 32, Nr. 12; Deutsch. med. Wochenschr. 1912.

Das Lösungsvermögen der Anionen der Kali- und Natronsalze zeigt so bei den Kali- wie bei den Natronsalzen dieselbe Reihenfolge, das heißt: die Rhodanide lösen am besten, die Citrate und Sulfate lösen die roten Blutkörperchen gar nicht, und die dazwischen liegenden Anionen lösen in folgender Reihenfolge:

$$Cl > Br > J > NO_3.$$

Die komplette Anionenreihe zeigt sich nun wie folgt:

$$SCN > Cl > Br > J > NO_3 > SO_4 > \text{Citrat}.$$

Diese Anionenreihe ähnelt der zuerst von *Hofmeister* bei Fällung der Eiweiße und bei Schwellung der Gelatine beschriebenen Anionenreihe[1]). Die ersten und letzten Glieder der *Hofmeister*schen Reihe stimmen mit den entsprechenden Gliedern der obengenannten Reihe gänzlich überein, die Reihenfolge der mittleren Glieder ist jedoch eine andere. Die mehrwertigen Kationen lösen auch schon in schwacher Konzentration stark die roten Blutkörperchen. Besonders schön zeigte sich dies bei dem dreiwertigen $AlCl_3$, dessen Lösungen schon in ganz schwacher Konzentration die roten Blutkörperchen prompt lösten. Hier jedoch kam auch eine andere Eigenschaft der hochwertigen Ionen zur Geltung, nämlich die, daß das ausgetretene Hämoglobin sofort gefällt wurde.

Wie wir bereits sahen, lösen verschiedene Salze desselben Kations die roten Blutkörperchen in einer bestimmten Reihenfolge. Die ersten und letzten Glieder dieser Reihe stimmen mit den entsprechenden Gliedern der *Hofmeister*schen Reihe überein, die mittleren Glieder jedoch nicht. Wenn man nun bei den Versuchen nicht die prozentuellen, sondern die äquimolekularen Konzentrationen der Salzlösungen miteinander vergleicht, kommt man zu einer mit der *Hofmeister*schen Quellungsreihe völlig übereinstimmenden Lösungsreihe.

Bei diesen Versuchen wurden folgende Kalisalze benutzt: KJ, KBr, $KNO_3$, KCl, KSCN, $K_2SO_4$ und Kaliumoxalat.

Wir bereiteten 2 n Lösungen der Salze mit Ausnahme der Sulfate und Oxalate, deren Lösungen ganz konzentriert benutzt wurden. Die Versuchsanordnung stimmte mit der oben erwähnten völlig überein.

Auch mit Natronsalzen stellten wir Versuche an und kamen zu gleichen Resultaten. Die Reihe stimmt also mit der *Hofmeister*schen Quellungsreihe vollkommen überein.

---

[1]) *Hofmeister* wies zuerst darauf hin, daß Gelatinescheibchen, in das gleiche Kation enthaltende Salzlösungen von gleicher molarer Konzentration gelegt, betreffend ihrer Schwellung sich verschiedenartig verhalten: in Rhodaniden schwellen die Scheibchen am stärksten, schwächer in J, Br, $NO_3$ und Cl; in Sulfat, Citrat, Acetat und Tartrat jedoch gar nicht oder sie schrumpfen eher zusammen.



| Lösungen | Proz. der hämolysierten roten Blutkörperchen | Lösungen | Proz. der hämolysierten roten Blutkörperchen |
|---|---|---|---|
| KSCN . . . . | 100 | KCl . . . . . | 3 |
| KJ . . . . . | 33 | $K_2SO_4$ . . . . | 0 |
| KBr . . . . . | 13 | K-Oxalat . . . | 0 |
| $KNO_3$ . . . . | 9 | | |

Daß zwischen den einwertigen Kationen in betreff ihres Lösungsvermögens ein Unterschied vorhanden sei, zeigt uns folgender Versuch. Hier wurden mit demselben Anion gebildete Salze verschiedener einwertiger Kationen miteinander verglichen.

| 3n Lösungen | Proz. der hämolysierten roten Blutkörperchen |
|---|---|
| LiCl . . . . . | 67 |
| NaCl . . . . . | 35 |
| KCl . . . . . | 33 |
| $(H_4N)Cl$ . . . | 36 |

Aus unseren Versuchen kamen wir zusammenfassend zu folgenden Schlüssen:

*1. Alle stark hypertonischen Salzlösungen, mit Ausnahme derjenigen, welche in der Hofmeisterschen Reihe auch schon physiologisch inaktive Anionen enthalten, hämolysieren die roten Blutkörperchen.*

*2. Die Reihenfolge der verschiedenen hypertonischen Salzlösungen, welche dasselbe Kation enthalten, entspricht betreffs ihrer hämolytischen Wirkung vollkommen der Hofmeisterschen Quellungsreihe.*

*3. Bei Salzen mehrwertiger Metalle spielt auch das Kation eine wichtige Rolle. Bei äquimolekularen Salzlösungen einwertiger Metalle mit demselben Anion sehen wir verschiedene Grade der Hämolyse, was auf die spezifische Eigenschaft einzelner Kationen zurückzuführen ist.*

## II.

In hypotonischen Salzlösungen quellen die roten Blutkörperchen gemäß der Widerstandsfähigkeit der Zellmembran, dann bersten sie, und ihr flüssiger Inhalt samt Hämoglobin tritt aus. Demgegenüber schrumpfen in hypertonischen Lösungen laut *Hamburger* die roten Blutkörperchen zusammen. *Hamburger* stellte diese Versuche nur mit schwach hypertonischen Salzlösungen (2 proz. NaCl-Lösung) an. Wie unsere Versuche jedoch zeigen, kommt man, die Hypertonie steigernd, zu einer Konzentration, in welcher die roten Blutkörperchen sich lösen.

Falls wir diese Erscheinung durch Osmosedifferenz erklären wollten, wie *Hamburger*, *Bechhold* und andere es taten, müßten wir annehmen, daß infolge der Osmosedifferenz die roten Blutkörperchen so stark schrumpfen, daß die zerknitterte Zellmembran birst und den Austritt des Hämoglobins verursacht.

Wir erklären diese Erscheinung auf andere Weise. Wir nehmen an, daß der Verlauf der in stark hypertonischen Salzlösungen eintretenden Hämolyse gleich dem in hypotonischen Salzlösungen sei, das heißt die roten Blutkörperchen quellen, bersten, und Hämolyse tritt ein.

Diese Annahme entspricht nicht unseren bisherigen Kenntnissen, findet jedoch eine starke Stütze in dem Falle, wenn wir — im Gegensatz zu den bisherigen Theorien — das rote Blutkörperchen nicht für eine mit Flüssigkeit gefüllte und mit einer semipermeablen Zellmembran versehene Kugel halten, sondern, wie *Bechhold*[1]) und andere, für einen mit fester kolloidaler Struktur versehenen Körper, in dessen Lücken sich die Hämoglobin enthaltende Flüssigkeit befindet.

Durch diese Annahme läßt sich nun das Verhalten der roten Blutkörperchen in verschieden konzentrierten Salzlösungen wie folgt erklären:

In hypo-, iso- und schwach hypertonischen Salzlösungen wird die Größe der roten Blutkörperchen durch die Osmoseverhältnisse bestimmt, wie *Hamburger* und andere nachgewiesen haben. Diese schwachen Salzkonzentrationen beeinflussen also nur die Saftzirkulation der roten Blutkörperchen, jedoch gar nicht oder nur in geringem Maße die festen Bestandteile derselben. Mit Steigerung der Hypertonie tritt jedoch allmählich auch die Beeinflussung der Kolloide in den Vordergrund: die Kolloide beginnen zu quellen.

Bei schwacher Hypertonie dominieren noch die Osmoseverhältnisse, und dadurch wird das Volumen der roten Blutkörperchen vermindert. Mit Steigerung der Hypertonie tritt jedoch allmählich die quellende Wirkung der Salze in den Vordergrund, wodurch die bei schwacher Hypertonie zusammengeschrumpften roten Blutkörperchen wieder zu quellen beginnen und hämolysieren.

Ähnliche Erscheinungen können wir bei Gelatinescheibchen sehen, welche in konzentrierte Salzlösungen gelegt wurden: Quellung am Anfang bis zu einem gewissen Maximum und nachher Auflösung derselben.

Die Richtigkeit dieser Theorie läßt sich auf zweierlei Arten beweisen:

1. *Direkter Beweis*: es wird die Volumänderung der roten Blutkörperchen in hypertonischen Salzlösungen nachgewiesen.

2. *Indirekter Beweis*, d. h. der Nachweis der Gültigkeit der *Hofmeister*schen Ionenreihe für die Hämolyse.

1. *Direkter Beweis.* Die Volumänderung der roten Blutkörperchen wurde unter dem Mikroskop beobachtet. Wir gaben gleiche Mengen der Blutkörperchensuspension zu NaCl-Lösungen verschiedener Konzentration

---

[1]) l. c., S. 331.

und bestimmten nach 15 Minuten die Größe der roten Blutkörperchen. Zu diesem Zwecke benutzten wir ein Zeiss-Mikroskop mit $^1/_{12}$ homogener Immersion, 18. Kompensationsokular und Okularmikrometer. Als Maß der Größe der roten Blutkörperchen bestimmten wir deren meßbare Oberfläche. In iso- und schwach hypertonischen Lösungen betrachteten wir ihre sichtbare Oberfläche als die Fläche eines Kreises ($F = r^2\pi$); die Oberfläche der stark gedunsenen und deformierten roten Blutkörperchen als die einer Ellipse ($F = ab\pi$). Da $\pi$ konstant ist, nahmen wir als Maß der Fläche $r^2$ bzw. $ab$ an.

| Konzentration der Lösungen | $r$ | $r^2$ |
|---|---|---|
| Isotonie . . . . . | 3,5 | 12,25 |
| 1,5 Proz. . . . . | 2,3 | 5,29 |
| 2,18 „ . . . . | 2,32 | 5,38 |

| Konzentration der Lösungen | $a$ | $b$ | $ab$ |
|---|---|---|---|
| 4,37 Proz. . . | 3,15 | 3,72 | 11,72 |
| 8,75 „ . . | 3,1 | 3,72 | 11,53 |
| 17,5 „ . . | 3,05 | 3,65 | 11,13 |

Aus diesen Messungen ist zu ersehen, daß das Volumen der roten Blutkörperchen in isotonischer Lösung bei Steigerung der Salzkonzentration sich anfangs vermindert, um nach diesem Übergang wieder die ursprüngliche Größe zu erreichen.

Durch diese Messungen wurde nun unsere Annahme gerechtfertigt, laut welcher bei Steigerung der Hypertonie die quellende Wirkung der Salze zur Geltung kommt. Die Quellung der roten Blutkörperchen geht also der Hämolyse voran. Dies steht im Gegensatze zu *Bechholds*[1]) Meinung. *Bechhold* nimmt in hypertonischen Lösungen auch eine Schrumpfungshämolyse an.

Unsere Messungen betreffs der Quellung der roten Blutkörperchen in hypertonischen Lösungen bestärken die Versuchsergebnisse von *Takeo Takei*[2]) — im Gegensatze zu *R. Ege*[3]) —, der mit anderer Methodik zu gleichen Ergebnissen kam.

2. *Indirekter Beweis.* Im ersten Teil unserer Mitteilung erbrachten wir den Beweis, daß die *Hofmeister*sche Ionenreihe auch für die Hämolyse gültig sei.

*Zusammenfassend* läßt sich nun folgendes sagen: In stark hypertonischen Salzlösungen wird die Hämolyse durch Quellung und nachherige Auflösung der roten Blutkörperchen verursacht. Der Beweis gelang uns erstens durch den direkten Nachweis der Volumvergrößerung der roten Blutkörperchen, zweitens dadurch, daß wir auf die Gültigkeit der *Hofmeister*schen Quellungsreihe für die Hämolyse hingewiesen haben.

---

[1]) l. c., S. 332.
[2]) Diese Zeitschr. **123**, 104.
[3]) Ebendaselbst **134**, 234.

# Autorenverzeichnis.







